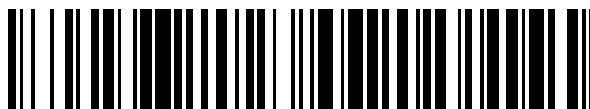


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 812**

51 Int. Cl.:

A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/34 (2007.01)
A61K 47/14 (2007.01)
A61K 9/107 (2006.01)
A23D 7/015 (2006.01)
A23L 33/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2010** **PCT/US2010/052840**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011** **WO11047259**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2010** **E 10824162 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2018** **EP 2488022**

54 Título: **Composiciones**

30 Prioridad:

08.12.2009 US 267697 P
16.10.2009 US 252310 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
04.04.2018

73 Titular/es:

MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
7 Yotsuya 1-chome, Shinjuku-ku
Tokyo 160-8515, JP

72 Inventor/es:

ABU-BAKER, OMAR, ABDELFATTAH;
MACKENZIE, DONALD, COLIN y
PAN, RENNAN

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 661 812 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones

Campo de la invención

La presente invención se refiere a formulaciones mejoradas de ácidos grasos omega-3. Más particularmente, la presente invención se refiere a formulaciones de emulsión o de preconcentrado de emulsión mejoradas de ácidos grasos omega-3.

Antecedentes de invención

En la técnica se conocen diversos ácidos grasos omega-3 y usos de los mismos, incluyendo en productos de suplementos alimenticios, nutricionales o farmacéuticos. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 5.502.077, 5.656.667 y 5.698.594.

Un producto farmacéutico se conoce como LOVAZA® (nombre de principio activo “ésteres etílicos de ácidos omega-3”), un agente regulador de lípidos aprobado por la U.S. Food and Drug Administration como complemento a la dieta para reducir los niveles de triglicéridos en pacientes adultos con niveles de triglicéridos muy altos (>500 mg/dl), a una dosis de 4 g al día (o bien como una única dosis de 4 g (4 cápsulas) o bien como dos dosis de 2 g (2 cápsulas administradas dos veces al día)).

LOVAZA® se comercializa como una cápsula de gel rellena de líquido para administración oral. Cada cápsula de 1 gramo de LOVAZA® contiene al menos 900 mg de ésteres etílicos de ácidos grasos omega-3. Estos son predominantemente una combinación de ésteres etílicos de EPA (aproximadamente 465 mg) y DHA (aproximadamente 375 mg). Las cápsulas de LOVAZA® también contienen los componentes inactivos: 4 mg de α -tocoferol (en un portador de aceites vegetales incluyendo aceite de semilla de soja), y gelatina, glicerol y agua purificada (componentes de la cubierta de cápsula).

Las directrices del Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, publicación de los NIH n.º 02-5215 (septiembre de 2002) (también conocido como “NCEP ATP III”) clasifican los triglicéridos como normales (<150 mg/dl), en el límite superior de lo normal (150-199 mg/dl), altos (200-499 mg/dl) y muy altos ($\geq$ 500 mg/dl). Aunque LOVAZA® ha demostrado eficacia en la reducción de los triglicéridos en la población con triglicéridos muy altos, para muchos pacientes sus triglicéridos permanecen por encima de los niveles normales.

Sería ventajoso aumentar el efecto terapéutico de composiciones de ácidos grasos omega-3 tales como LOVAZA®, por ejemplo para proporcionar métodos mejorados de tratamiento tales como reducción de triglicéridos elevados. Un enfoque para aumentar el efecto terapéutico de fármacos administrados por vía oral es aumentar la exposición o absorción del fármaco después de la administración oral. Por tanto, puede ser ventajoso aumentar la exposición de ácidos grasos omega-3 tras la administración oral. Sería particularmente ventajoso si pudiera proporcionarse un efecto terapéutico aumentado sin aumentar la carga de administración, tal como carga de pastillas o cápsulas, por ejemplo, manteniendo o incluso reduciendo la cantidad y/o frecuencia de dosificación, por ejemplo el número y/o tamaño de las cápsulas. Reducir la carga de administración puede permitir, por ejemplo, una administración más fácil, mejorar el cumplimiento del paciente, reducir efectos secundarios tales como eructos, reducir la ingesta calórica, reducir la exposición a cualquier componente no deseado que pueda estar presente en algunos productos de omega-3 y/o reducir el coste de la terapia.

La bibliografía incluye diversas referencias que dan a conocer estudios que implican composiciones de ácidos grasos omega-3 y/o aceite de pescado, que en algunos casos pueden ser composiciones emulsionadas o emulsionables. Véanse, por ejemplo, Garaiova *et al.* Nutrition Journal 2007, 6:4 (<http://www.nutritionj.com/contents/6/1/4>); Raatz *et al.* Jnl of the American Dietetic Association, junio de 2009, vol. 109, n.º 6 1076-1081; Mishra *et al.* patente estadounidense n.º 6.284.268, expedida el 4 de septiembre de 2001; documento W02008/101344; y Bryhn, M. *et al.*, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 75:19-24 2006.

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una forma de dosificación oral que es un producto de suplemento alimenticio, nutricional o farmacéutico que comprende una composición de preconcentrado de emulsión que comprende:

desde el 60 hasta el 85% en peso de un aceite de ácidos grasos omega-3; y

desde el 15 hasta el 40% en peso de uno o más tensioactivos;

basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición;

en la que la composición está caracterizada porque el tensioactivo se selecciona de PEG 35-aceite de ricino,

polisorbato 80 y mezclas de los mismos.

5 En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral que comprende una composición de preconcentrado de emulsión según la invención, en la que en contacto con un líquido acuoso, la composición de preconcentrado puede formar una emulsión que tiene una mediana del tamaño de partícula de desde 100 nm hasta 3 μ m.

En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en la que el aceite de ácidos grasos omega-3 comprende al menos el 40% (por ejemplo al menos el 80%) en peso de uno o más ácidos grasos omega-3.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en la que el aceite de ácidos grasos omega-3 es el único componente activo en la composición.

En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en la que el tensioactivo es una mezcla de PEG 35-aceite de ricino y polisorbato 80.

15 En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención la composición de preconcentrado de emulsión comprende desde el 60 hasta el 80% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3 y desde el 20 hasta el 40% en peso del tensioactivo, basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición.

20 En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en la que la composición de preconcentrado de emulsión comprende el 70% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3 y el 30% en peso del tensioactivo, basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición.

En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en la que la composición de preconcentrado de emulsión comprende además del 0,1 al 5% en peso, basándose en el peso total de la composición, de un codisolvente seleccionado de agua, alcoholes C₁₋₄ y mezclas de los mismos.

25 En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en la que la razón en peso del aceite de ácidos grasos omega-3 con respecto al tensioactivo es superior a 2:1.

En un aspecto, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención en forma de una cápsula dura o blanda.

30 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una forma de dosificación oral según la invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un estado seleccionado del grupo que consiste en hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, dislipidemia mixta, enfermedad cardiovascular, cardiopatía coronaria (CHD), enfermedad vascular, enfermedad aterosclerótica y estados relacionados, acontecimientos cardiovasculares y/o vasculares.

Las composiciones de emulsión y/o de preconcentrado de emulsión de la invención pueden:

aumentar la absorción oral (exposición), biodisponibilidad oral y/o eficacia oral de uno o más de los ácidos grasos omega-3 constituyentes del aceite de ácidos grasos omega-3, con respecto al aceite de ácidos grasos omega-3;

35 proporcionar métodos mejorados de tratamiento, por ejemplo, tratando triglicéridos elevados tal como reduciendo triglicéridos elevados (por ejemplo, niveles de triglicéridos de >500 mg/dl, o $\geq$ 200 mg/dl, o $\geq$ 150 mg/dl); y/o

permitir la reducción de los niveles y/o la frecuencia de dosificación del aceite de ácidos grasos omega-3 requeridos para lograr una terapia eficaz (por ejemplo, reducir el número y/o tamaño de las cápsulas).

Descripción detallada de la invención

40 A menos que se mencione lo contrario o que el contexto requiera lo contrario:

tal como se usa en el presente documento en referencia a un componente de una composición, “un”, “una” y “el/la” incluyen uno o más de los componentes (por ejemplo “un tensioactivo” incluye uno o más tensioactivos, etc.);

45 tal como se usa en el presente documento en referencia a un valor o intervalo de valores, “aproximadamente” incluye el valor expresamente mencionado (por ejemplo, “de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 3 μ m” incluye específicamente el intervalo de 100 a 3 μ m, etc.);

realizaciones que comprenden características mencionadas también pueden consistir esencialmente en o consistir en esas características (por ejemplo una composición que comprende componentes mencionados también puede consistir esencialmente en o consistir en esos componentes);

se entenderá que la palabra “comprender”, y variaciones tales como “comprende” y “que comprende”, implican la

inclusión de un número entero o etapa o grupo de número enteros mencionado pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de número enteros o etapas;

la presente invención cubre todas las combinaciones de grupos particulares y preferidos descritos en el presente documento, por ejemplo, una "mezcla" de componentes mencionados incluye mezclas entre grupos de componentes y/o entre un grupo de componentes particular (por ejemplo, una mezcla de ácidos, ésteres de glicéridos y ésteres de alcoholes abarca: 1) una mezcla de ácidos; 2) una mezcla de ácidos, ésteres de glicéridos y ésteres de alcoholes; etc.).

Una emulsión de la invención se refiere en su sentido convencional a una dispersión que comprende una fase acuosa y una fase aceitosa. La fase acuosa comprende un medio (preferiblemente un medio líquido) que comprende agua, incluyendo, por ejemplo, agua en sí misma u otro líquido acuoso. La fase aceitosa comprende al menos un componente orgánico hidrófobo (lipófilo) (por ejemplo, un aceite de ácidos grasos omega-3).

Emulsiones de la invención son emulsiones de aceite en agua (o/w), en las que la fase aceitosa comprende un aceite de ácidos grasos omega-3 y está dispersada en la fase acuosa, de tal manera que la fase aceitosa puede describirse en el sentido convencional como "particulada" o "de gotitas". Sin embargo, la emulsión puede mostrar en menor medida características de emulsiones de agua en aceite (w/o) u otras dispersiones. Por tanto, las emulsiones de la invención pueden describirse como sustancialmente emulsiones de aceite en agua.

En realizaciones preferidas, la fase dispersa tiene una mediana del tamaño de partícula en el intervalo de desde aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 3 μm (incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 1 μm , por ejemplo de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 300 nm). La "mediana del tamaño de partícula" tal como se usa en el presente documento se refiere al percentil 50 de la distribución acumulativa de tamaño. En algunas realizaciones, la emulsión tiene un tamaño de partícula x90 (es decir, percentil 90 de la distribución acumulativa de tamaño) de aproximadamente 5 μm o menos, por ejemplo de aproximadamente 1,5 μm o menos. En algunas realizaciones, la fase dispersa tiene tanto la mediana del tamaño de partícula como el tamaño de partícula x90 anteriores. Los tamaños de partícula se determinan tal como se describe en la sección experimental a continuación en el presente documento.

En algunas realizaciones, una emulsión de la invención muestra una o más de las siguientes propiedades:

a) es termodinámicamente estable, es decir, permanece estable a temperaturas ambientales (20-30°C, especialmente 25°C), por ejemplo sin separación ópticamente observable o formación sustancial de partículas de mayor tamaño o precipitación, a lo largo de periodos de tiempo prolongados. Las emulsiones preferidas permanecen estables a temperaturas ambientales a lo largo de un periodo de al menos 3 horas, más preferiblemente al menos 6 horas, lo más preferiblemente al menos 24 horas; y/o

b) se forma de manera fácil o espontánea con agitación y mezclado mínimos.

Tal como se usa en el presente documento, un "preconcentrado de emulsión" es un sistema que, en contacto con agua (por ejemplo, adición a o mezclado con agua o un líquido acuoso) puede formar una emulsión. Una emulsión formada a partir de un preconcentrado de la invención se forma preferiblemente de manera espontánea o sustancialmente espontánea cuando se pone el preconcentrado de emulsión en contacto con agua; es decir no se requiere energía sustancial tal como calentamiento o uso de equipos de alta cizalladura u otra agitación sustancial para formar la emulsión. Por ejemplo, la emulsión puede formarse tras la administración oral del preconcentrado en condiciones existentes en el estómago. La emulsión resultante puede ser tal como se define de manera general en el presente documento o tal como se define mediante cualquier realización particular. Por ejemplo, en algunas realizaciones la emulsión resultante tiene una mediana del tamaño de partícula de desde aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 3 μm (incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 1 μm o de aproximadamente 100 nm a aproximadamente 300 nm). La emulsión resultante puede tener además un tamaño de partícula x90 de aproximadamente 5 μm o menos, por ejemplo de aproximadamente 1,5 μm o menos).

Aceite de ácidos grasos omega-3:

La forma de dosificación oral que comprende una composición de preconcentrado de emulsión según la invención comprende un aceite de ácidos grasos omega-3 que comprende uno o más ácidos grasos omega-3.

Tal como se usa en el presente documento, "ácido graso omega-3" incluye ácidos grasos omega-3 libres, naturales o sintéticos, y derivados de los mismos, a menos que se excluya expresamente. De manera similar, la referencia a un ácido graso omega-3 particular incluye derivados del mismo, a menos que se excluya expresamente.

Los derivados de ácidos grasos omega-3 adecuados incluyen ésteres, conjugados (véanse, por ejemplo, Zaloga *et al.* documento US 2004/0254357 y Horrobin *et al.* documento U.S. 6.245.811), precursores, sales u otros derivados de ácidos grasos omega-3 farmacéuticamente aceptables.

Los ejemplos de ácidos grasos omega-3 incluyen:

a) ácidos grasos libres poliinsaturados omega-3 (por ejemplo que tienen colas alifáticas de 12-22 carbonos, especialmente 18-22 carbonos), incluyendo ácidos grasos libres de cadena larga, poliinsaturados, omega-3, por ejemplo ácido eicosapentaenoico C20:5 ("EPA"), ácido docosahexaenoico C22:6 ("DHA") y ácido alfa-linolénico;

5 b) ésteres de ácidos grasos omega-3 (por ejemplo ácidos grasos libres poliinsaturados omega-3, por ejemplo, de cadena larga) con glicerol tales como mono, di y triglicéridos; y

c) ésteres de ácidos grasos omega-3 (por ejemplo ácidos grasos libres poliinsaturados omega-3, por ejemplo, de cadena larga) y un alcohol primario, secundario o terciario tales como ésteres metílicos y ésteres etílicos de ácidos grasos.

El aceite de ácidos grasos omega-3 puede comprender una mezcla cualquiera de los anteriores.

10 Ácidos grasos omega-3 preferidos son ácidos grasos libres de cadena larga poliinsaturados, triglicéridos de los mismos, ésteres etílicos de los mismos y mezclas de los mismos, incluyendo por ejemplo EPA, DHA, triglicéridos de EPA, triglicéridos de DHA, ésteres etílicos de EPA, ésteres etílicos de DHA y mezclas de los mismos.

15 El aceite de ácidos grasos omega-3 puede comprender un ácido graso omega-3 en su forma pura o, por ejemplo, como componente de un aceite tal como aceites marinos o botánicos (incluyendo concentrados de los mismos), tales como aceite de pescado (también conocido como aceite marino), preferiblemente concentrados de aceite de pescado purificado, aceite de perilla, aceite de microalgas marinas, o el aceite procedente de lino (linaza), chía, kiwi, arándano rojo, camelina, verdolaga o semilla de frambuesa negra. Los aceites que contienen altas concentraciones de ácidos grasos omega-3 tales como aceites de pescado o sus mezclas, incluyendo concentrados de los mismos, son particularmente útiles. El término "aceite de ácidos grasos omega-3" abarca estas formas.

20 Los ejemplos comerciales de aceites de ácidos grasos omega-3 adecuados para su uso en la invención incluyen Incomega F2250, F2628, E2251, F2573, TG2162, TG2779, TG2928, TG3525 y E5015 (Croda International PLC, Yorkshire, Inglaterra), y EPAX6000FA, EPAX5000TG, EPAX4510TG, EPAX2050TG, K85TG, K85EE, K80EE y EPAX7010EE (Pronova Biocare a.s., 1327 Lysaker, Noruega).

25 En algunas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 comprende una mezcla de ácidos grasos. En diversas realizaciones, los ácidos grasos pueden ser sólo ácidos grasos omega-3 o pueden comprender uno o más ácidos grasos omega-3 en combinación con uno o más ácidos grasos que no son omega-3, por ejemplo ácidos grasos omega-6, ácidos grasos omega-9, etc. En algunas realizaciones, la composición de ácidos grasos mixtos comprende ácidos grasos en una concentración de al menos el 25% en peso, preferiblemente al menos el 40% en peso, más preferiblemente al menos el 50% en peso, todavía más preferiblemente al menos el 60% en peso, todavía más preferiblemente al menos el 70% en peso, lo más preferiblemente al menos el 80% en peso, o incluso al menos el 90% en peso, en peso de la composición.

35 En algunas realizaciones el aceite de ácidos grasos omega-3 comprende uno o más ácidos grasos omega-3 en una concentración total de al menos el 25% en peso, preferiblemente al menos el 40% en peso, más preferiblemente al menos el 50% en peso, todavía más preferiblemente al menos el 60% en peso, todavía más preferiblemente al menos el 70% en peso, lo más preferiblemente al menos el 80% en peso, o incluso al menos el 90% en peso (por ejemplo al menos del 95%, hasta el 100% en peso), en peso de los ácidos grasos totales en el aceite. La composición puede comprender ácido(s) graso(s) omega-3 puro(s).

40 Preferiblemente, el aceite de ácidos grasos omega-3 comprende al menos el 50% en peso de EPA y DHA, más preferiblemente al menos el 60% en peso, todavía más preferiblemente al menos el 70% en peso, lo más preferiblemente al menos el 80%, tal como aproximadamente el 84% en peso, en peso de los ácidos grasos totales en el aceite.

45 El aceite de ácidos grasos omega-3 puede comprender de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 100% en peso, más preferiblemente de aproximadamente el 25 a aproximadamente el 75% en peso, todavía más preferiblemente de aproximadamente el 40 a aproximadamente el 55% en peso, y de la manera más preferible aproximadamente el 46% en peso de EPA en peso de los ácidos grasos totales en el aceite.

El aceite de ácidos grasos omega-3 puede comprender de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 100% en peso, más preferiblemente de aproximadamente el 25 a aproximadamente el 75% en peso, todavía más preferiblemente de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 60% en peso, y de la manera más preferible aproximadamente el 38% en peso de DHA en peso de los ácidos grasos totales en el aceite.

50 En otras realizaciones, los porcentajes anteriores son en peso del aceite de ácidos grasos omega-3.

55 Los porcentajes en peso pueden basarse en las formas de ácido libre o de éster, aunque se basan preferiblemente en la forma de éster etílico de los ácidos grasos omega-3 (y otros ácidos grasos, si están presentes) aunque se usen otras formas según la presente invención. Tal como se usa en el presente documento, la referencia a "EPA" y "DHA" incluye las formas de ácido libre y de éster (incluyendo específicamente, por ejemplo, las formas de éster etílico), a menos que se mencione lo contrario.

En algunas realizaciones, EPA y DHA están en una razón en peso de EPA:DHA de desde 99:1 hasta 1:99, por ejemplo, desde 1:4 hasta 4:1, por ejemplo desde 1:3 hasta 3:1, o por ejemplo desde 1:2 hasta 2:1. El aceite de ácidos grasos omega-3 también puede comprender EPA puro o DHA puro.

- 5 En algunas realizaciones el aceite de ácidos grasos omega-3 es una composición mencionada en las patentes estadounidenses n.ºs 5.502.077, 5.656.667 o 5.698.594.

- 10 El aceite de ácidos grasos omega-3 incluye opcionalmente uno o más componentes adecuados para su uso en una composición de suplemento alimenticio, nutricional o farmacéutica, incluyendo excipientes, portadores, diluyentes, etc., siempre que el aceite sea dispersable y pueda formar una emulsión. Por ejemplo, en algunas realizaciones el aceite de ácidos grasos omega-3 incluye un antioxidante químico, tal como alfa-tocoferol, un aceite, tal como aceite de semilla de soja o aceite vegetal parcialmente hidrogenado, un lubricante tal como aceite de coco fraccionado, lecitina, aceite mineral o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 es una composición de ácidos grasos mixtos que comprende ésteres de ácidos grasos omega-3 de LOVAZA® (K85EE, Pronova Biocare A.S., Lysaker, Noruega), que comprende preferiblemente las siguientes características (en donde "EE" se refiere a éster etílico):

Prueba	Valor mínimo	Valor máximo
Ácido eicosapentaenoico C20:5, EE	430 mg/g de composición	495 mg/g
Ácido docosahexaenoico C22:6, EE	347 mg/g de composición	403 mg/g
EPA y DHA, EE	800 mg/g de composición	880 mg/g
Ácidos grasos omega-3 (n-3) totales, EE	El 90% (p/p) en peso de la composición	

- 15 En algunas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 es un aceite de pescado que contiene ácidos omega-3 tal como se describe en la farmacopea de los EE.UU. ("USP") y National Formulary, Dietary Supplements, por ejemplo USP32-NF7, publicado el 1 de noviembre de 2008, cuya fecha oficial es el 1 de mayo de 2009, y/o según se presenta como suplemento en el segundo suplemento (publicado el 1 de junio de 2009, cuya fecha oficial es el 1 de diciembre de 2009); The United States Pharmacopeial Convention; United Book Press Baltimore MD.
- 20 En algunas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 se obtiene a partir del aceite corporal de familias de peces tales como *Engraulidae*, *Carangidae*, *Clupeidae*, *Osmeridae*, *Salmonidae* y *Scombridae*. En algunas realizaciones, el aceite de pescado se purifica, por ejemplo, usando fraccionamiento con urea seguido por destilación molecular. En algunas realizaciones, incluyendo cuando se obtiene a partir de los aceites de pescado anteriores, el aceite de ácidos grasos omega-3 comprende $\geq 90\%$ en peso de los ácidos grasos omega-3 EPA, DHA, ácido docosapentaenoico ("DPA"), ácido estearidónico ("SDA"), ácido heneicosapentaenoico ("HPA"), ácido eicosatetraenoico ("ETA") y ácido alfa-linolénico ("ALA"); y preferiblemente del 80 al 88% en peso de EPA y DHA, del 43 al 49,5% de EPA y del 34,7 al 40,3% en peso de DHA.
- 25

- 30 En algunas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 tal como se describe en la monografía de la USP para ésteres etílicos de ácidos omega-3 (USP33-NF28, 2º suplemento, publicado el 30 de junio de 2009, cuya fecha oficial es el 1 de febrero de 2011; The United States Pharmacopeial Convention; Rockville, MD).

- 35 El aceite de ácidos grasos omega-3 está presente como componente activo, y como tal se pretende que proporcione actividad fisiológica o farmacológica, u otro efecto, por ejemplo en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de una enfermedad o un estado o que afecte a la estructura o a cualquier función del organismo de un sujeto (por ejemplo mamífero, especialmente ser humano). Al menos uno de los ácidos grasos omega-3 presentes en el aceite contribuye a la actividad. Los expertos en la técnica reconocerán que uno o más de otros constituyentes en el aceite de ácidos grasos omega-3 pueden ser responsables en parte de la actividad. También se reconocerá que diferentes constituyentes pueden proporcionar diferentes tipos y/o niveles de actividades.

- 40 En algunas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 es el único componente activo en la composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión. En algunas realizaciones, uno o más de los ácidos grasos omega-3 particulares presentes, y opcionalmente uno o más de otros ácidos grasos que pueden estar presentes, son el/los único(s) componente(s) activo(s) en la composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión.

Tensioactivos:

La forma de dosificación oral de la presente invención comprende una composición de preconcentrado de emulsión que comprende:

- 45 desde el 60 hasta el 85% en peso de un aceite de ácidos grasos omega-3; y
- desde el 15 hasta el 40% en peso de uno o más tensioactivos;
- basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición;
- en la que la composición está caracterizada porque el tensioactivo se selecciona de PEG 35-aceite de ricino,

polisorbato 80 y mezclas de los mismos.

Los tensioactivos se conocen bien en la técnica, véase por ejemplo Handbook of Pharmaceutical Excipients, editado por Rowe, R.C. *et al.*, 5ª edición. En realizaciones preferidas, el tensioactivo (o bien como tensioactivo individual o bien como combinación de tensioactivos) se caracteriza por una o más de las siguientes características:

- 5 a) es miscible (es decir, crea una única fase) o parcialmente miscible con el aceite de ácidos grasos omega-3 (cuando se usa con o sin un codisolvente opcional);
- b) es seguro para su uso en formulaciones de suplemento alimenticio, nutricional o farmacéuticas (por ejemplo, se ha aprobado para su uso en tales productos, se ha usado de manera segura en tales productos y/o se clasifica como GRAS (reconocido generalmente como seguro));
- 10 c) tiene un índice de peróxido de <5 y un contenido en agua de <2,0; y/o
- d) tiene un HLB ("equilibrio hidrófilo-lipófilo") alto, por ejemplo un valor de HLB de 10-18.

Los tensioactivos que comprenden uno o más tensioactivos hidrófilos no iónicos incluyen:

a) Derivados de polioxietileno-aceite de ricino, incluyendo los comercialmente disponibles con el nombre comercial "CREMOPHOR" (BASF Corp., Mount Olive, NJ), especialmente:

- 15 CREMOPHOR EL o ELP, también denominado PEG 35-aceite de ricino, aceite de ricino polietoxilado, ricinoleato de macroglicol, hidroxiestearato de macroglicol, POE-35-aceite de ricino, ricinoleato de PEG; siendo CREMOPHOR ELP una calidad purificada de CREMOPHOR EL que tiene un menor contenido en agua, K y ácidos grasos libres, un aceite de ricino polioxietilenglicolado; y CREMOPHOR RH 40, también denominado polioxi 40-aceite de ricino hidrogenado, hidroxiestearato de macroglicol, polioxietileno 40-aceite de ricino hidrogenado,
- 20 PEG-40-aceite de ricino hidrogenado; y

b) Ésteres de ácidos grasos de polioxietileno-sorbitano, incluyendo los comercialmente disponibles con el nombre comercial "TWEEN" (ICI Americas), especialmente:

- 25 TWEEN 80, también conocido como 80[monooleato de polioxietileno (20)-sorbitano], polisorbato 80; monooleato de polioxietileno (20)-sorbitano, un éster de ácido graso parcial de sorbitol y sus anhídridos polimerizados con óxido de etileno, más específicamente un éster monooleílico de ácido graso de polioxietileno-sorbitano, que comprende una mezcla de ácidos grasos que incluye ácido mirístico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico y linolénico, predominantemente ácido oleico;

- 30 TWEEN 85, también conocido como 85[trioleato de polioxietileno (20)-sorbitano], polisorbato 85; trioletato de polioxietileno (20)-sorbitano, un éster de ácido graso parcial de sorbitol y sus anhídridos polimerizados con óxido de etileno, más específicamente un éster trioletico de ácido graso de polioxietileno-sorbitano, que comprende una mezcla de ácidos grasos que incluye ácido mirístico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico y linolénico, predominantemente ácido oleico;

TWEEN 20, también conocido como polisorbato 20, derivados de poli(oxi-1,2-etanodiilo); laurato de polioxietileno 20; monolaurato de polioxietileno (20)-sorbitano, monododecanoato de sorbitano;

- 35 TWEEN 60, también conocido como polisorbato 60, estearato de polioxietileno 20, derivados de poli(oxi-1,2-etandiilo) de monooctadecanoato de sorbitano; y

TWEEN 40, también conocido como polisorbato 40, monopalmitato de polioxietileno (20)-sorbitano, monohexadecanoato de sorbitano.

- 40 En algunas realizaciones, el tensioactivo se selecciona de derivados de polioxietileno-aceite de ricino (especialmente CREMOPHOR EL, CREMOPHOR ELP), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno-sorbitano (especialmente TWEEN 80) y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones más particulares, el componente tensioactivo comprende aproximadamente el 10-20% (por ejemplo, aproximadamente el 15%) en peso de CREMOPHOR EL o ELP, y aproximadamente el 80-90% (por ejemplo, aproximadamente el 85%) en peso de TWEEN 80, basándose en el componente tensioactivo total.

45 Componentes opcionales:

Las composiciones de emulsión o de preconcentrado de emulsión de la invención pueden comprender opcionalmente uno o más codisolventes. Sin pretender limitarse a la teoría, al mecanismo o similar, el codisolvente puede usarse, por ejemplo, para mejorar la miscibilidad del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo. En algunas realizaciones, el codisolvente se mezcla previamente con los uno o más tensioactivos.

- 50 En algunas realizaciones, el codisolvente se selecciona de agua, alcoholes C₁₋₄ (de cadena lineal o ramificada, por ejemplo etanol o "EtOH"), ácidos grasos C₁₂₋₂₂ (por ejemplo, ácido oleico) y mezclas de los mismos. Se ha

encontrado que el codisolvente puede influir en el tamaño de partícula de la emulsión resultante. Por ejemplo, el ácido oleico tendía a aumentar el tamaño de partícula y se plantea la hipótesis de que otros ácidos grasos puedan comportarse de manera similar. El etanol y el agua no tendían a tener ningún impacto sobre el tamaño de partícula, o tendían a reducir ligeramente el tamaño de partícula. Se plantea la hipótesis de que otros alcoholes puedan comportarse de manera similar.

Se ha encontrado sorprendentemente que la presencia de cantidades minoritarias de agua en una composición de preconcentrado de emulsión de la invención, particularmente en el equilibrio, tiende a mejorar la claridad de la composición y/o la miscibilidad del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo. En algunas realizaciones, hay agua presente en una cantidad de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 5% en peso, preferiblemente de aproximadamente el 0,7 a aproximadamente el 5% en peso, más preferiblemente de aproximadamente el 0,7 a aproximadamente el 1,2% en peso, basándose en el peso total de la composición de preconcentrado de emulsión (determinado mediante valoración de Karl Fischer; usando de manera adecuada un coulombímetro con procesador de muestras KF con horno Metrohm 774/756 o un método equivalente, incluyendo métodos volumétricos). El agua puede estar presente mediante adición directa a la composición de preconcentrado, y/o mediante absorción de humedad durante la fabricación de la composición, por ejemplo a partir de los materiales usados o a partir del entorno. En algunas realizaciones, el agua se absorbe durante la fabricación. Por ejemplo, el agua puede absorberse a partir de los materiales usados para preparar una cápsula durante la preparación de un preconcentrado de emulsión encapsulado, por ejemplo a partir de los materiales usados para preparar una cápsula de gelatina blanda (por ejemplo, la mezcla gelatinosa que comprende gelatina y agua). La presente invención incluye una composición de preconcentrado de emulsión encapsulada preparada mediante un procedimiento de este tipo. La preparación de cápsulas de gelatina blanda y otras cápsulas se conoce bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science & Practice of Pharmacy, 20ª ed., Alfonso R. Gennaro, Editor, Lippincott Williams & Watkins, 2000, por ejemplo 885-891.

Las composiciones de emulsión y de preconcentrado de emulsión de la invención también pueden servir como portador o vehículo de otros componentes opcionales, incluyendo uno o más agentes farmacéuticos, agentes veterinarios, suplementos alimenticios o nutricionales (por ejemplo hierbas, minerales), o excipientes tales como agentes colorantes (por ejemplo tintes, pigmentos), conservantes y antioxidantes.

En algunas realizaciones, las composiciones de la invención comprenden uno o más componentes activos distintos del aceite de ácidos grasos omega-3. El/los otro(s) componente(s) activo(s) puede(n) estar presente(s) en una mezcla que comprende el aceite de ácidos grasos omega-3, por ejemplo en el componente de relleno de una cápsula en la que el relleno comprende una composición de preconcentrado de emulsión, en un recubrimiento sobre una cápsula que comprende una composición de preconcentrado de emulsión, incorporado(s) en al menos un componente de una cubierta de cápsula de una cápsula que comprende una composición de preconcentrado de emulsión, o cualquier combinación de los mismos.

Por ejemplo, los uno o más de otros componentes activos pueden disolverse sustancialmente en la composición (por ejemplo, una composición de preconcentrado de emulsión, por ejemplo, en la mezcla de aceite de ácidos grasos omega-3, tensioactivo y codisolvente opcional), para formar una disolución sustancialmente homogénea del/de los componente(s) activo(s) en la composición. En algunas realizaciones, se forma una disolución esencialmente homogénea (es decir, menos del 10% en peso, preferiblemente menos del 5% en peso, más preferiblemente menos del 1% en peso del/de los otro(s) componente(s) activo(s), basándose en el peso de la composición, queda sin disolver). En algunas realizaciones, el/los componente(s) activo(s) se disuelve(n) completamente.

En otras realizaciones, al menos una parte de los uno o más de otros componentes activos está presente como suspensión en la composición (por ejemplo, una composición de preconcentrado de emulsión, por ejemplo, en la mezcla de aceite de ácidos grasos omega-3, tensioactivo y codisolvente opcional). En algunas realizaciones, la suspensión comprende partículas cristalinas sólidas, partículas amorfas sólidas o mezclas de las mismas, de los uno o más de otros componentes activos en la composición. En algunas realizaciones, al menos aproximadamente el 80-100% (por ejemplo, al menos aproximadamente el 80-99%, incluyendo al menos aproximadamente el 85, el 90 o el 95%) de los uno o más de otros componentes activos está presente como partículas sólidas en suspensión.

En otras realizaciones, los uno o más de otros componentes activos están presentes en uno o más recubrimientos sobre una cápsula (por ejemplo una cápsula de gel blanda) que contienen una composición de preconcentrado de emulsión. Los ejemplos de recubrimientos que contienen componentes activos que pueden usarse en la presente invención incluyen los dados a conocer en la solicitud de patente publicada estadounidense n.º US 2007/0212411A1.

Un componente activo, incluyendo otros componentes activos diferentes, puede estar presente en cualquier combinación de las formas anteriores. En realizaciones preferidas, tales composiciones de la invención comprenden formas de dosificación orales, particularmente cápsulas y lo más particularmente cápsulas de gel blandas.

Los ejemplos de otros componentes activos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: analgésicos, agentes antiinflamatorios, antihelmínticos, agentes antiarrítmicos, agentes antiasmáticos, agentes antibacterianos, agentes antivirales, anticoagulantes, agentes antidemencia, antidepresivos, antidiabéticos, antiepilépticos, agentes antifúngicos, agentes antigota, agentes antihipertensores, antimalaria, agentes antimigrañosos, agentes

antimuscarínicos, agentes antineoplásicos, inmunosupresores, agentes antiprotozoarios, agentes antitiroideos, antitusivos, ansiolíticos, sedantes, hipnóticos, neurolépticos, agentes neuroprotectores, β -bloqueantes, agentes inotrópicos cardíacos, inhibidores de la adhesión celular, corticosteroides, moduladores de la actividad de receptores de citocinas, diuréticos, agentes contra el Parkinson, agentes gastrointestinales, antagonistas de receptores H histamínicos, queratolíticos, agentes reguladores de lípidos, relajantes musculares, nitratos y otros agentes antianginosos, agentes antiasmáticos no esteroideos, agentes nutricionales, analgésicos opioides, hormonas sexuales, estimulantes y agentes contra la disfunción eréctil.

En algunas realizaciones, el/los otro(s) componente(s) activo(s) comprende(n) un agente de regulación de lípidos tal como, pero sin limitarse a, ácidos grasos distintos del aceite de ácidos grasos omega-3, ésteres de ácidos grasos de estanol o esteroles, un compuesto de estatina, un inhibidor de la síntesis de escualeno, un inhibidor de la absorción de colesterol basado en azetidinona, un potenciador del catabolismo de LDL (lipoproteína de baja densidad), un agonista y/o antagonista de receptor activado por proliferador de peroxisomas (PPAR), niacina y derivados tales como nicotinamida, un secuestrante de ácidos biliares, un inhibidor de MTP, un agonista y/o antagonista de LXR, y combinaciones de los mismos.

Los ejemplos particulares de otros componentes activos incluyen los principios farmacéuticos activos dados a conocer en la solicitud de patente publicada estadounidense n.º US 2007/0212411A1 a la que se hizo referencia anteriormente.

Composiciones de emulsión y de preconcentrado de emulsión de la invención:

La proporción relativa de componentes en las composiciones de la invención variará dependiendo, por ejemplo, del tipo particular de composición en cuestión, por ejemplo de si es un preconcentrado de emulsión, una emulsión, una forma de dosificación oral formada a partir de la emulsión, etc., y de los componentes particulares empleados. La determinación de proporciones viables en cualquier caso particular estará generalmente dentro de las capacidades de un experto en la técnica a la vista de esta divulgación. Por consiguiente, debe entenderse que todas las proporciones e intervalos de peso relativo indicados descritos en el presente documento son sólo indicativos de enseñanzas preferidas o más particulares, y no limitativos de la invención en su sentido más amplio.

Composiciones de preconcentrado de emulsión:

En algunas realizaciones, una composición de preconcentrado de emulsión de la invención comprende:

desde el 60 hasta el 85% en peso (por ejemplo desde el 60 hasta el 80% en peso, por ejemplo el 70% en peso) del aceite de ácidos grasos omega-3; y

desde el 15 hasta el 40% en peso (por ejemplo, desde el 20 hasta el 40% en peso, por ejemplo el 30% en peso) del tensioactivo;

basándose en el peso de aceite de ácidos grasos omega-3 y tensioactivo en la composición de preconcentrado de emulsión;

en la que la composición está caracterizada porque el tensioactivo se selecciona de PEG 35-aceite de ricino, polisorbato 80 y mezclas de los mismos; y

puede comprender opcionalmente además desde el 0,1 hasta aproximadamente el 5% en peso (por ejemplo del 0,7 a aproximadamente el 5% en peso, o de aproximadamente el 0,7 a aproximadamente 1,2% en peso), basándose en el peso total de la composición de preconcentrado de emulsión, de un codisolvente seleccionado de agua, alcoholes C₁₋₄ y mezclas de los mismos.

Por ejemplo, una composición de preconcentrado de emulsión de la invención puede comprender:

desde aproximadamente el 60 hasta aproximadamente el 80% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3;

desde aproximadamente el 20 hasta aproximadamente el 40% en peso del tensioactivo;

basándose en el peso del aceite de ácidos grasos omega-3 y tensioactivo en la composición de preconcentrado de emulsión; y opcionalmente

desde aproximadamente el 0,7 hasta aproximadamente el 5% en peso (por ejemplo de aproximadamente el 0,7 a aproximadamente el 1,2% en peso) de codisolvente, basándose en el peso total de la composición de preconcentrado de emulsión;

o en algunas realizaciones:

aproximadamente el 70% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3;

aproximadamente el 30% en peso del tensioactivo;

basándose en el peso del aceite de ácidos grasos omega-3 y tensioactivo en la composición de preconcentrado de emulsión; y opcionalmente

de aproximadamente el 0,7 a aproximadamente el 5% en peso (por ejemplo de aproximadamente el 0,7 a aproximadamente el 1,2% en peso) de codisolvente; basándose en el peso total de la composición de preconcentrado de emulsión.

En algunas realizaciones, la razón en peso de aceite de ácidos grasos omega-3 y tensioactivo en la composición es superior a 2:1, por ejemplo está en el intervalo de desde más de 2:1 hasta aproximadamente 6:1 o hasta aproximadamente 4:1.

Tal como se indicó anteriormente, el preconcentrado de emulsión o la emulsión puede comprender uno o más aceites de ácidos grasos omega-3, tensioactivos y/o codisolventes. En algunas de las realizaciones anteriores de composición de preconcentrado de emulsión, el aceite de ácidos grasos omega-3 es K85EE, el tensioactivo se selecciona de derivados de polioxietileno-aceite de ricino (especialmente CREMOPHOR EL, CREMOPHOR ELP), ésteres de ácidos grasos de polioxietileno-sorbitano (especialmente TWEEN 80) y mezclas de los mismos, y el codisolvente opcional es agua. En una realización de tales composiciones, el componente tensioactivo comprende aproximadamente el 10-20% (por ejemplo, aproximadamente el 15%) en peso de CREMOPHOR EL o ELP, y aproximadamente el 80-90% (por ejemplo, aproximadamente el 85%) en peso de TWEEN 80, basándose en el componente tensioactivo total.

Un preconcentrado de la invención puede formarse combinando los componentes aceite de ácidos grasos omega-3 y tensioactivo y mezclando hasta que la combinación es uniforme. En general, se calienta un tensioactivo en forma sólida o semisólida hasta licuarse (por ejemplo, hasta aproximadamente 30°C), y después se mezcla con el aceite de ácidos grasos omega-3. Pueden combinarse componentes opcionales y mezclarse con componentes individuales o una mezcla de componentes.

En algunas realizaciones, un preconcentrado de emulsión de la invención se forma mediante un procedimiento que comprende las etapas de combinar el/los tensioactivo(s) con un codisolvente (por ejemplo agua), mezclar hasta que la combinación es uniforme, después combinar la mezcla con el aceite de ácidos grasos omega-3 (por ejemplo, añadiendo la mezcla al aceite), y después mezclar la combinación hasta que es uniforme. En tales realizaciones, cuando el/los tensioactivo(s) está(n) en forma sólida o semisólida, en primer lugar se calienta el tensioactivo (por ejemplo hasta aproximadamente 30°C) para licuar el/los tensioactivo(s), y después se combina(n) y se mezcla(n) con el codisolvente.

En algunas realizaciones, la invención comprende una cápsula dura o blanda, en la que el relleno comprende un preconcentrado de emulsión de la invención. La fabricación de cápsulas duras o blandas la conocen generalmente los expertos habituales en la técnica. Por ejemplo, pueden prepararse cápsulas blandas mediante diversos procedimientos incluyendo el procedimiento de placas, el procedimiento de troquel rotativo, el procedimiento de troquel alternante y el procedimiento continuo. Véanse, por ejemplo, Remington: The Science & Practice of Pharmacy, 20^a ed., Alfonso R. Gennaro, Editor, Lippincott Williams & Watkins, 2000, por ejemplo 885-891; Ebert (1978), "Soft Elastic Gelatin Capsules: A Unique Dosage Form", Pharmaceutical Technology 1 (5); Reich (2004), "Chapter 11: formulation and physical properties of soft capsules", Pharmaceutical Capsules, 2^a ed., Pharmaceutical Press, 201-212. Véanse también las patentes estadounidenses n.ºs 5.478.508 y 5.882.680, y las publicaciones de solicitud de patente estadounidense n.ºs US 2005/0106233A1 y US 2007/0259097A1, que dan a conocer métodos de fabricación de cápsulas sin juntas. Pueden usarse materiales de cápsula tal como se conocen en la técnica; los ejemplos de materiales de cápsula incluyen gelatina natural o sintética, pectina, caseína, colágeno, proteína, almidón modificado, polivinilpirrolidona, polímeros acrílicos, derivados de celulosa (por ejemplo hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), metilcelulosa (MC)), alginatos y otros polisacáridos, y combinaciones de los mismos, opcionalmente con uno o más plastificantes y/o agua. Los materiales de cápsula también pueden incluir uno o más conservantes, colorantes, agentes opacificantes, aromatizantes, edulcorantes, azúcares, sustancias gastrorresistentes o combinaciones de los mismos. En realizaciones actualmente preferidas, la cápsula es una cápsula de gelatina blanda ("cápsula blanda" o "cápsula de gel blanda").

La forma y el tamaño de las cápsulas pueden variar según la invención. La forma de la cápsula puede ser, pero no se limita a, esférica o redonda, ovalada, tubular, oblonga, retorcida o una forma no convencional (por ejemplo, un pez, árbol, estrella, corazón u oso), preferiblemente oblonga. El tamaño de la cápsula usada variará según el volumen de la composición de relleno que se pretende contener en la misma.

Por ejemplo, en algunas realizaciones de la presente invención, pueden fabricarse cápsulas de gelatina duras o blandas según métodos convencionales como una unidad de un único cuerpo que comprende la forma de cápsula convencional. Una cápsula de gelatina blanda de un único cuerpo puede proporcionarse normalmente, por ejemplo, en tamaños de desde 3 hasta 22 minim (siendo 1 minim igual a 0,0616 ml) y en formas ovalada, oblonga u otras. La cápsula de gelatina también pueden fabricarse según métodos convencionales, por ejemplo, como una cápsula de gelatina dura de dos piezas, sellada o sin sellar, normalmente de forma convencional y diversos tamaños convencionales, denominadas convencionalmente (000), (00), (0), (1), (2), (3), (4) y (5). El número más grande corresponde al tamaño más pequeño. También pueden usarse formas no convencionales.

Por ejemplo, las cápsulas de preconcentrado de emulsión se forman de manera adecuada mediante encapsulación directa de una mezcla que comprende el aceite de ácidos grasos omega-3 y tensioactivo en cápsulas de gelatina blanda. En una etapa de combinación, se combinan el aceite y el tensioactivo. Se aplica mezclado continuo; o alternativa o adicionalmente se añade aproximadamente el 1% en peso de agua a la mezcla, por ejemplo, para 5 ayudar en la formación de una disolución homogénea. Los equipos y las condiciones se seleccionan de manera adecuada para minimizar el riesgo de oxidación y para eliminar la formación de espumas o el burbujeo, por ejemplo tanques de mezclado sellados con capacidades de cubierta de nitrógeno, recirculación y vacío son adecuados. Después se encapsula la mezcla, usando de manera adecuada encapsulación rotativa. Para la formación de una 10 cápsula, se somete a colada mecanizada una masa de gel fundida (por ejemplo, que comprende gelatina, glicerol y agua) para dar dos cintas continuas, que se hace que converjan entre un par de troqueles y una cuña de inyección a través de la cual se bombea la mezcla de relleno en las cantidades determinadas. El llenado y el sellado de la cápsula son esencialmente coincidentes, para formar cápsulas del tamaño, peso de cubierta, peso de relleno y grosor de sello deseados. Se secan las cápsulas hasta obtener una dureza adecuada (por ejemplo, no menos de 8,5 Newton), por ejemplo en primer lugar mediante secado por volteo en una secadora rotatoria (por ejemplo, 15 min/segmento durante un total de aproximadamente 60-75 minutos) seguido por secado en túnel en bandejas poco profundas. Las cápsulas se pulen o se lavan por pulverización de manera adecuada para eliminar el aceite lubricante usado durante el procedimiento, usando por ejemplo alcohol isopropílico.

En algunas realizaciones, pueden recubrirse cápsulas de la invención con uno o más recubrimientos que comprenden un material de recubrimiento, tal como un material formador de película y/o aglutinante, y 20 opcionalmente otros aditivos convencionales tal como se conocen en la técnica. El/los recubrimiento(s) puede(n) aplicarse mediante cualquier técnica convencional tal como recubrimiento en cuba, lecho fluido o por pulverización, por ejemplo como una disolución, suspensión, pulverización, polvo fino o polvo. El/los recubrimiento(s) puede(n) formularse para liberación inmediata, liberación retardada, liberación entérica, liberación sostenida, recubrimiento protector, recubrimiento sellante y/o recubrimiento de barrera según métodos bien conocidos en la técnica. Se describen técnicas de recubrimiento convencionales, por ejemplo, en Remington: The Science & Practice of 25 Pharmacy, 20ª ed., Alfonso R. Gennaro, Editor, Lippincott Williams & Watkins, 2000, por ejemplo 894-902. Los ejemplos de materiales formadores de película y aditivos convencionales incluyen los dados a conocer en las solicitudes de patente publicada estadounidense n.ºs US 2007/0212411A1, US 2005/0106233A1 y US 2007/0259097A1. Tal como se comentó anteriormente, uno o más recubrimientos pueden comprender uno o más de 30 otros componentes activos.

Cuando se administra por vía oral un preconcentrado de emulsión de la invención, puede formarse una emulsión tras entrar en contacto con los líquidos gástricos acuosos con o sin coadministración con un líquido acuoso adecuado. También puede diluirse un preconcentrado de emulsión de la invención con un líquido acuoso adecuado 35 antes de la administración (formando en algunas realizaciones una emulsión), que después se administra. Los líquidos acuosos adecuados son ingeribles, e incluyen la propia agua, zumos u otras bebidas o líquidos potables que contienen agua. La emulsión formada puede tener cualquiera de las características de emulsiones descritas en el presente documento, por ejemplo una mediana del tamaño de partícula de desde aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 3 µm.

Composiciones de emulsión:

40 En el presente documento se da a conocer una composición de emulsión de la invención que comprende:

desde aproximadamente el 15 hasta aproximadamente el 30% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3;

desde aproximadamente el 5 hasta aproximadamente el 10% en peso del tensioactivo;

un líquido acuoso que proporciona desde aproximadamente el 65 hasta aproximadamente el 80% en peso de agua;

45 y opcionalmente desde aproximadamente el 0 hasta aproximadamente el 5% en peso de codisolvente (distinto de agua);

en la que los porcentajes en peso se basan en el peso total de la composición de emulsión.

En algunas de estas realizaciones, el aceite de ácidos grasos omega-3 es K85EE, el tensioactivo se selecciona de derivados de polioxietileno-aceite de ricino (especialmente CREMOPHOR EL, CREMOPHOR ELP), ésteres de 50 ácidos grasos de polioxietileno-sorbitano (especialmente TWEEN 80) y mezclas de los mismos, y el codisolvente opcional se selecciona de ácidos grasos C₁₂₋₂₂ (especialmente ácido oleico), alcoholes C₁₋₄ (especialmente etanol) y mezclas de los mismos.

Los líquidos acuosos adecuados son ingeribles, e incluyen la propia agua, zumos u otras bebidas o líquidos potables que contienen agua. Se entenderá que, para obtener una emulsión, se requiere agua adecuada. Generalmente, una 55 composición de emulsión comprenderá al menos aproximadamente el 70% en peso de agua, basándose en el peso de la composición.

Puede formarse una composición de emulsión dada a conocer en el presente documento combinando y mezclando

hasta que son uniformes los componentes aceite de ácidos grasos omega-3, tensioactivo y líquido acuoso, y cualquier componente opcional, en cualquier orden. En otras realizaciones, la composición de emulsión puede formarse mezclando un preconcentrado de emulsión de la invención con un líquido acuoso (que comprende, por ejemplo, al menos aproximadamente el 1% en peso de preconcentrado).

5 Usos

Otras realizaciones de la presente invención proporcionan la forma de dosificación oral según la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un estado seleccionado del grupo que consiste en hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, dislipidemia mixta, enfermedad cardiovascular, cardiopatía coronaria (CHD), enfermedad vascular, enfermedad aterosclerótica y estados relacionados, acontecimientos cardiovasculares y/o vasculares.

En el presente documento se da a conocer el uso de una composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión de la invención para la fabricación de un producto de suplemento alimenticio, nutricional o farmacéutico (o medicamento) adecuado para el tratamiento de cualquiera de las enfermedades, estados o similares para los que puede usarse el aceite de ácidos grasos omega-3.

En el presente documento se da a conocer además un método de tratamiento que comprende administrar una composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión de la invención (incluyendo versiones diluidas de la misma), a un sujeto que lo necesita, para el tratamiento de cualquiera de las enfermedades, estados o similares para los que puede usarse el aceite de ácidos grasos omega-3.

Tal como se usa en el presente documento, “tratar” en referencia a una enfermedad o un estado incluye: (1) mejorar o prevenir la enfermedad o el estado o una o más de las manifestaciones biológicas de la enfermedad o el estado, (2) interferir con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a, o es responsable de, la enfermedad o el estado o (b) una o más de las manifestaciones biológicas de la enfermedad o el estado, (3) aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados con la enfermedad o el estado, o (4) ralentizar la progresión de la enfermedad o el estado o una o más de las manifestaciones biológicas de la enfermedad o el estado.

Tal como se indicó anteriormente, el “tratamiento” de una enfermedad o un estado incluye la prevención de la enfermedad o el estado. El experto en la técnica apreciará que “prevención” no es un término absoluto. En medicina, se entiende que “prevención” se refiere a la administración profiláctica de un fármaco o componente activo para reducir sustancialmente la probabilidad o intensidad de una enfermedad o un estado o manifestación biológica del mismo, o para retrasar la aparición de tal enfermedad o estado o manifestación biológica del mismo. Por consiguiente, la prevención incluye la reducción del riesgo de aparición de una enfermedad o un estado.

Tal como se usa en el presente documento, “sujeto” se refiere a un ser humano o a otro animal (por ejemplo, mamíferos).

La composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión se administra generalmente en una cantidad segura y eficaz, es decir, una cantidad suficiente para tratar la enfermedad o el estado del sujeto pero lo suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves (a una razón de riesgo/beneficio razonable) dentro del alcance del criterio médico razonable. Una cantidad segura y eficaz variará con la composición particular elegida (por ejemplo, considerando la potencia, eficacia y semivida de los componentes activos); la vía de administración elegida; la enfermedad o el estado que está tratándose; la intensidad de la enfermedad o el estado que está tratándose; la edad, el tamaño, el peso y el estado físico del sujeto que está tratándose; la historia clínica del sujeto que va a tratarse; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia concurrente; el efecto terapéutico deseado; y factores similares, pero no obstante puede determinarla de manera rutinaria el experto en la técnica.

Las enfermedades o los estados para los que puede usarse el aceite de ácidos grasos omega-3 incluyen enfermedades o estados para los que pueden usarse uno o más de los ácidos grasos omega-3 constituyentes. Los ejemplos de enfermedades o estados para los que pueden usarse el/los ácido(s) graso(s) omega-3 y el aceite de ácidos grasos omega-3 incluyen los conocidos ahora así como nuevos usos que puedan identificarse, incluyendo el tratamiento de uno o más niveles de lípidos en plasma anómalos o función cardiovascular anómala. Por ejemplo, el aceite de ácidos grasos omega-3 puede usarse para el tratamiento de al menos un estado o enfermedad seleccionado independientemente del grupo que consiste en hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, dislipidemia mixta, enfermedad cardiovascular, cardiopatía coronaria (CHD), enfermedad vascular, enfermedad aterosclerótica y estados relacionados, y/o para la prevención o reducción de acontecimientos cardiovasculares y/o vasculares (incluyendo MACE, MCE). Las enfermedades o los estados pueden ser cualquiera de los dados a conocer en las patentes estadounidenses n.ºs 5.502.077, 5.656.667 o 5.698.594.

Enfermedad cardiovascular (CVD) es un término amplio que abarca una variedad de enfermedades y condiciones. Se refiere a cualquier trastorno en cualquiera de las diversas partes del sistema cardiovascular, que consiste en el corazón y todos los vasos sanguíneos que se encuentran por todo el organismo. Las enfermedades del corazón pueden incluir arteriopatía coronaria, CHD, cardiomiopatía, valvulopatía, enfermedad pericárdica, cardiopatía congénita (por ejemplo, coartación, comunicaciones intraauricular o intraventricular) e insuficiencia cardíaca. Las enfermedades de los vasos sanguíneos pueden incluir arteriosclerosis, aterosclerosis, hipertensión, accidente

cerebrovascular, demencia vascular, aneurisma, arteriopatía periférica, claudicación intermitente, vasculitis, insuficiencia venosa, trombosis venosa, varices y linfedema. Algunos pacientes pueden haber recibido tratamiento para su CVD, tal como revascularizaciones vasculares o coronarias (angioplastia con o sin colocación de endoprótesis o injerto vascular). Algunos tipos de enfermedad cardiovascular son congénitos, pero muchos se adquieren a lo largo de la vida y pueden atribuirse a hábitos poco saludables, tales como un estilo de vida sedentario y fumar. Algunos tipos de CVD también pueden conducir a problemas cardíacos adicionales, tales como angina de pecho, acontecimientos cardiovasculares adversos principales (MACE) y/o acontecimientos coronarios principales (MCE) tales como infarto de miocardio (MI) o intervención coronaria, o incluso muerte (cardíaca o cardiovascular), lo que destaca la importancia de los esfuerzos por tratar y prevenir la CVD.

- 5 Puede usarse aceite de ácidos grasos omega-3 para la prevención primaria o secundaria. Los esfuerzos de prevención primaria se centran en reducir los factores de riesgo conocidos para CVD, o prevenir su desarrollo, con el objetivo de retrasar o prevenir la aparición de CVD, MACE o MCE. Los esfuerzos de prevención secundaria se centran en reducir la CVD recurrente y disminuir el riesgo de mortalidad, MACE o MCE en pacientes con CVD establecida.
- 10 Los MACE incluyen muerte cardíaca, otra muerte cardiovascular, MCE (que incluyen infarto de miocardio (MI) e intervención coronaria tal como revascularización coronaria, angioplastia, angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA), intervención coronaria percutánea (PCI) y injerto de derivación aortocoronaria (CABG)), hospitalización por angina de pecho inestable, accidente cerebrovascular, accidente isquémico transitorio (TIA) y hospitalización por arteriopatía periférica (PAD).

- 15 CHD incluye cardiopatía isquémica sintomática, incluyendo MI, angina de pecho estable o inestable, isquemia de miocardio demostrada mediante pruebas no invasivas, e historia de intervenciones aortocoronarias (véase, por ejemplo, NCEP ATP III).

La presente invención incluye el uso de la forma de dosificación oral de la invención para tratar cualquiera de las enfermedades o los estados mencionados anteriormente.

- 20 En algunas realizaciones, la composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión se usa para reducir los triglicéridos (TG). Por consiguiente, en algunas realizaciones el tratamiento comprende administrar una composición de la invención para reducir los TG, por ejemplo para reducir los triglicéridos en pacientes que tienen triglicéridos muy altos (>500 mg/dl), triglicéridos altos (≥200 mg/dl) o triglicéridos en el límite superior de lo normal (150-199 mg/dl). Por ejemplo, los niveles de triglicéridos en pacientes que tienen triglicéridos muy altos pueden reducirse hasta niveles altos, en el límite superior de lo normal o normales; o los niveles de triglicéridos en pacientes que tienen triglicéridos altos pueden reducirse hasta niveles en el límite superior de lo normal o normales; o los niveles de triglicéridos en pacientes que tienen triglicéridos en el límite superior de lo normal pueden reducirse hasta niveles normales (<150 mg/dl).

- 25 En algunas realizaciones, el tratamiento comprende administrar una composición de preconcentrado de emulsión o de emulsión de la invención para mejorar uno o más de otros parámetros de lípidos. En algunas realizaciones, se aumenta HDL-C (colesterol de lipoproteínas de alta densidad) y/o se reducen uno o más de los siguientes parámetros de lípidos: colesterol que no es HDL-C (colesterol que no es de lipoproteínas de alta densidad), LDL-C (colesterol de lipoproteínas de baja densidad), TC (colesterol total), VLDL-C (colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad), razón TC:HDL-C, y ApoB (apolipoproteína B). En algunas realizaciones, el tratamiento comprende administrar una composición de la invención para reducir los TG, y para mejorar además uno o más de los otros parámetros de lípidos mencionados anteriormente tal como se describe.

- 30 Por ejemplo, en algunas realizaciones, se reduce el colesterol que no es HDL-C, o se reduce tanto el colesterol que no es HDL-C como los TG. En algunas realizaciones, se reducen el colesterol que no es HDL-C y los TG en pacientes que tienen dislipidemia mixta con TG altos. Tales pacientes pueden estar recibiendo terapia concomitante, por ejemplo, terapia con estatinas.

En algunas realizaciones, el tratamiento comprende administrar una composición de la invención para mejorar los parámetros de lípidos postprandiales, por ejemplo para aumentar las HDL postprandiales y/o reducir uno o más de TG, colesterol que no es HDL-C, LDL-C, TC, VLDL-C, razón TC:HDL y nivel de ApoB postprandiales.

- 35 En algunas realizaciones, se reducen los TG en al menos aproximadamente el 5% (por ejemplo al menos aproximadamente el 10, el 15, el 20, el 25, el 30, el 40, el 50 o el 60%) tras el tratamiento (en comparación con el valor de TG de nivel inicial antes del tratamiento). En algunas realizaciones, la reducción de TG tras el tratamiento con una composición de la invención es mayor que cualquier reducción de TG tras el tratamiento con el aceite de ácidos grasos omega-3 no emulsionado administrado a una dosis real equivalente o superior, por ejemplo una reducción de TG de al menos aproximadamente el 5%, el 10% o el 15% mayor (en comparación con valores de TG de nivel inicial antes de los tratamientos, respectivamente).

En algunas realizaciones, la mejora en uno o más de otros parámetros de lípidos tras el tratamiento con una composición de la invención es mayor que cualquier mejora tras el tratamiento con el aceite de ácidos grasos omega-3 no emulsionado administrado a una dosis real equivalente o superior (aumento o reducción según sea

aplicable; en comparación con valor(es) de lípidos de nivel inicial antes de los tratamientos, respectivamente).

En algunas realizaciones, las mejoras de TG u otro(s) parámetro(s) de lípidos se logran usando una dosis equivalente, o una dosis inferior de aceite de ácidos grasos omega-3, con respecto a la dosis de aceite de ácidos grasos omega-3 no emulsionado.

- 5 En algunas realizaciones, las mejoras de TG u otro(s) parámetro(s) de lípidos se logran a las 4 semanas, 8 semanas, 12 semanas, 24 semanas o 1 año con tratamiento.

10 En el presente documento se da a conocer además un método de aumento de la absorción oral (exposición) y/o biodisponibilidad oral de un ácido graso omega-3 en un sujeto que necesita tratamiento con un ácido graso omega-3, que comprende administrar por vía oral una composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión de la invención al sujeto, en el que la absorción oral y/o biodisponibilidad oral se aumenta en comparación con la absorción oral y/o biodisponibilidad oral tras la administración del aceite de ácidos grasos omega-3 usado en la composición.

15 En algunas realizaciones, se muestra un aumento de la absorción mediante un aumento del AUC de los ácidos grasos omega-3 totales medidos. En algunas realizaciones, los ácidos grasos omega-3 que se miden son EPA y/o DHA. En algunas realizaciones, se aumenta el nivel en suero sanguíneo de EPA y/o DHA totales, preferiblemente se aumenta el nivel en suero sanguíneo de EPA y/o DHA totales en al menos aproximadamente 2, 3 ó 4 veces (por ejemplo, desde al menos aproximadamente 2 veces hasta aproximadamente 5-15 veces) en comparación con el nivel en suero sanguíneo de EPA y/o DHA totales tras la administración del aceite de ácidos grasos omega-3 usado en la composición. En algunas realizaciones, también se aumenta el nivel en suero sanguíneo de EPA y/o DHA libres, en comparación con el nivel en suero sanguíneo de EPA y/o DHA libres tras la administración del aceite de ácidos grasos omega-3 usado en la composición.

25 La composiciones de emulsión y de preconcentrado de emulsión de la invención puede emplearse para la administración de cualquier manera apropiada. En realizaciones preferidas, la composición se administra por vía oral, por ejemplo en forma de dosificación unitaria tal como forma de cápsula dura o blanda (incluyendo cápsulas de gelatina); o una forma que puede beberse tal como un líquido ingerible formado mezclando una composición de emulsión o de preconcentrado de emulsión de la invención con otros componentes (tales como líquidos acuosos descritos en el presente documento) para formar una mezcla que puede beberse, incluyendo bebidas. En realizaciones preferidas, la composición de preconcentrado de emulsión se administra en forma encapsulada, especialmente como cápsula de gelatina blanda.

30 La composición de preconcentrado de emulsión o de emulsión se administra en una cantidad y frecuencia para proporcionar el tratamiento deseado. En general, la composición de preconcentrado o de emulsión se administra para proporcionar una cantidad diaria de aceite de ácidos grasos omega-3, preferiblemente una cantidad diaria de ácidos grasos omega-3, de desde aproximadamente 0,1 g, 0,5 g, 0,75 g o aproximadamente 1 g, hasta aproximadamente 1 g, 1,5 g, 2 g, 3 g, 4 g, 8 g o 10 g al día, incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 g a aproximadamente 10 g, de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 8 g, de aproximadamente 0,75 g a aproximadamente 4 g, de aproximadamente 0,1 g a aproximadamente 2 g, de aproximadamente 0,5 g a aproximadamente 1,5 g, o aproximadamente 1 g al día. En algunas realizaciones, la administración es para proporcionar aproximadamente 1-4 g (incluyendo de manera particular aproximadamente 1, 2, 3 ó 4 g) de aceite de ácidos grasos omega-3 (preferiblemente ácidos grasos omega-3) al día.

40 La dosificación diaria de aceite de ácidos grasos omega-3 se administrará generalmente en desde 1-10 dosificaciones, por ejemplo 1-4 ó 1-2 dosificaciones al día. Por ejemplo, pueden administrarse 1 ó 2 cápsulas dos veces al día (es decir 2 ó 4 cápsulas al día) para proporcionar la dosificación diaria total deseada.

45 La composición o el preconcentrado de emulsión puede administrarse durante un periodo suficiente para proporcionar y mantener el tratamiento deseado. En general, las composiciones de la invención se administrarán durante al menos 4 semanas, incluyendo al menos 8 semanas, 12 semanas o 24 semanas o al menos un año.

En algunas realizaciones, una composición de preconcentrado de emulsión de la invención se administra por vía oral con un líquido acuoso adecuado (un líquido ingerible, incluyendo la propia agua, zumos u otras bebidas o líquidos potables que contienen agua). Por ejemplo, puede administrarse una composición de preconcentrado de emulsión con hasta aproximadamente 500 ml de un líquido acuoso adecuado.

50 Los métodos de tratamiento de la invención dados a conocer en el presente documento pueden lograrse usando las composiciones de preconcentrado de emulsión o de emulsión de la invención como monoterapia, o en terapia de combinación doble o múltiple con uno o más agentes terapéuticos o terapias, por ejemplo con uno o más componentes activos dados a conocer anteriormente en el presente documento, que pueden administrarse en cantidades eficaces. Pueden usarse uno o más compuestos de una clase dada, o de diferentes clases en combinación con una composición de preconcentrado de emulsión o de emulsión de la invención. El uso en combinación incluye productos de combinación (por ejemplo formas de dosificación, incluyendo las descritas anteriormente en el presente documento) así como regímenes. Por consiguiente, el/los componente(s) activo(s) puede(n) combinarse en una única composición de preconcentrado de emulsión o de emulsión, o puede(n) estar en

diferentes composiciones que se administran a un paciente de manera simultánea o en diferentes momentos.

En algunas realizaciones, un método de tratamiento tal como se da a conocer en el presente documento se logra usando la composición de preconcentrado de emulsión o de emulsión como monoterapia, en la que el aceite de ácidos grasos omega-3 es el único componente activo (tal como se describió anteriormente).

- 5 En otras realizaciones, un método de tratamiento tal como se da a conocer en el presente documento se logra con terapia de combinación con al menos otro componente activo, tal como se describe en el presente documento, por ejemplo un agente de regulación de lípidos, que puede usarse en cantidades eficaces incluyendo las conocidas en la técnica (por ejemplo, en información de receta). En realizaciones particulares, al menos otro componente activo de lípidos comprende una estatina.

10 Ejemplos

Ejemplo 1 - Método para determinar el tamaño de partícula (incluyendo la mediana y x90)

Se emplea un instrumento de análisis del tamaño de partícula de Malvern (Mastersizer 2000 ver. 5.40; Malvern Instruments Inc., Westborough, MA, EE.UU.), que usa una técnica de dispersión de luz de láser estática para medir el tamaño de partícula, o un equivalente, para determinar el tamaño de partícula de una emulsión, incluyendo una emulsión formada a partir de un preconcentrado.

Por ejemplo, se combina un preconcentrado de emulsión de la invención con agua desionizada, en una razón de 1 g de preconcentrado con respecto a 20 ml de agua a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Se invierte esta mezcla 20 veces (por ejemplo, en un tubo de ensayo, manualmente, teniendo cuidado de no agitar provocando formación de espuma o burbujas) para dispersar los componentes y formar una emulsión. La distribución de tamaño de partícula (frecuencia frente a diámetro de partícula, basándose en una distribución en volumen normalizada) se determina mediante el instrumento Mastersizer 2000, y se notifica como datos estadísticos de tamaño de partícula tales como la mediana (percentil 50 de la distribución acumulativa de tamaño, algunas veces denominado D50) y x90 (percentil 90 de la distribución acumulativa de tamaño, algunas veces denominado D90). Se usa agua como medios en el instrumento Mastersizer. También se determinan la mediana del tamaño de partícula y el tamaño de partícula x90 de otras composiciones de emulsión de la invención (por ejemplo, emulsiones líquidas de prueba) usando el instrumento Mastersizer 2000, usando la composición de prueba directamente.

Ejemplo 2 - Método para determinar la biodisponibilidad relativa

Tras la ingesta, la digestión y absorción de ácidos grasos omega-3 a partir de ésteres de ácidos grasos omega-3 implican 3 etapas diferentes: hidrólisis a partir del alcohol al que están unidos, absorción/transporte al interior de los enterocitos del intestino, y posterior uso intestinal o empaquetamiento para el transporte al organismo (tal como entenderán los expertos en la técnica, la digestión y absorción tras la ingesta de los ácidos grasos libres correspondientes implicarían las últimas dos etapas).

Tras una hidrólisis rápida y completa de ésteres etílicos de omega-3 mediante esterasas en el intestino, los ácidos grasos libres se absorben/transportan al interior de los enterocitos intestinales, vuelven a esterificarse rápidamente y entran en la circulación sistémica a través del conducto torácico como quilomicrones. Tras el tránsito a través del conducto torácico, los quilomicrones entran en el plasma. La semivida normal de un quilomicrón en la circulación es de aproximadamente 10 minutos. La lipoproteína lipasa, presente en las superficies endoteliales de lechos capilares, hidroliza el núcleo de triglicéridos del quilomicrón, liberando los ácidos grasos para su captación tisular.

La absorción de ácidos grasos omega-3 al interior de la circulación sistémica puede medirse directamente determinando los niveles en plasma de su forma libre y los niveles totales tras liberar la forma de ácido graso libre de su forma esterificada (quilomicrones).

Además, la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos séricos se correlaciona con niveles incorporados en membranas (por ejemplo, membranas de eritrocitos, monocitos y trombocitos) (véase, por ejemplo Katan, MB, *et al.*, J Lipid Res. 1997; 38:2012-22 y Tremoli, E *et al.*, Am J Clin Nutr. 1995; 67:607-13). La composición de ácidos grasos omega-3 de membranas de eritrocitos y trombocitos se correlaciona, a su vez, con el contenido en todo el organismo de estos compuestos. Por tanto, el análisis de fosfolípidos en sangre es una manera apropiada de evaluar el rendimiento de productos destinados a aumentar las reservas corporales totales de ácidos grasos omega-3. El análisis de fosfolípidos en plasma se ha descrito, por ejemplo, por Harris, W. *et al.* Clinical Biochemistry 43 (2010) 338-340; Harris, W. *et al.*, American Journal of Clinical Nutrition 2007; 86: 1621-5; Cao, J. *et al.*, Clinical Chemistry 52:12 2265-2271 (2006); Harris, W. *et al.*, Preventive Medicine 39 (2004) 212-220; y Park, Y. *et al.*, Journal of Lipid Research 44, 2003 455-463.

Por tanto, cuando se investiga la absorción de ácidos grasos omega-3 que comprenden EPA y DHA (por ejemplo, a partir de ésteres etílicos de ácidos grasos omega-3 que comprenden ésteres etílicos de EPA y DHA), el aumento de EPA y DHA en fosfolípidos en plasma o en suero puede usarse como medida de absorción. Estas medidas de absorción pueden usarse como medida de biodisponibilidad oral.

En el/los siguiente(s) experimento(s) se describe con más detalle la metodología para medir la absorción de ácidos grasos omega-3.

En el presente documento pueden usarse las siguientes definiciones:

$C_{\text{máx}}$ – concentración máxima observada

5 AUC – área bajo la curva de concentración-tiempo

$AUC_{(0-x)}$ – AUC desde cero (antes de la dosis) hasta algún tiempo nominal fijado

$AUC_{(0-t)}$ – AUC desde cero (antes de la dosis) hasta el último tiempo de concentración cuantificable dentro de un sujeto a lo largo de todos los tratamientos

$AUC_{(0-\infty)}$ – AUC desde cero (antes de la dosis) extrapolado hasta el tiempo infinito

10 $T_{\text{máx}}$ – tiempo de aparición de $C_{\text{máx}}$

$t_{1/2}$ – semivida en fase terminal

CV – coeficiente de varianza (CVb = entre sujetos; CVw = dentro de un sujeto)

IC – intervalo de confianza

LS – mínimos cuadrados

15 Se usan otros términos estadísticos de acuerdo con su significado comúnmente usado, a menos que se indique lo contrario de manera expresa o por el contexto.

Ejemplo 3 – Estudios de biodisponibilidad relativa:

20 En dos estudios separados en perros, se comparó la biodisponibilidad relativa de aceite K85EE al 100% con 7 formulaciones de emulsión de aceite K85EE (5 cápsulas de preconcentrado y 2 formulaciones líquidas). Se administró cada formulación como una única administración oral (cuando se trataba de formulaciones líquidas, mediante sonda) a perros Beagle macho sometidos a ayunas a dosis objetivo de 26,8 y 20,5 mg/kg de ésteres etílicos (EE) de EPA y DHA, respectivamente.

25 En los estudios se usaron perros Beagle macho sometidos a tratamiento (peso corporal de aproximadamente 9-13 kg). Se realizó una toma de muestras en condiciones de ayunas durante un periodo de toma de muestras de 8 horas. Es decir, se sometieron los perros a ayunas durante la noche antes de cada día de estudio y se les volvió a proporcionar alimento (una dieta canina convencional) tras un periodo de extracción de sangre de 8 horas. Había agua del grifo filtrada disponible a voluntad.

30 Para análisis farmacocinéticos, se extrajeron nominalmente muestras de sangre a las 0, 0,5, 1, 2, 4, 6 y 8 horas tras la dosis (o si no se administraron dosis, en un momento arbitrario que sería habitualmente el momento de la dosificación). Se mezclaron suavemente los tubos de extracción y se colocaron sobre hielo inmediatamente después de la extracción. Se prepararon muestras de plasma en el plazo de una hora tras la extracción mediante centrifugación, se dispensaron en tubos de polipropileno y se congelaron inmediatamente hasta el análisis de EPA (ácido eicosapentaenoico) y DHA (ácido docosahexaenoico) libres y totales.

35 Se sometió a ensayo el plasma para determinar EPA y DHA totales usando un método basado en digestión de triglicéridos que incluyó digestión ácida y básica, seguido por extracción líquido-líquido con hexano. Se lograron la separación cromatográfica y la detección con un sistema de cromatografía de líquidos de ultra-alta resolución-espectrometría de masas en tándem (UHPLC/MS/MS) con un límite de cuantificación inferior (LLQ) de 0,5 µg/ml. También se sometieron a ensayo muestras de plasma para determinar EPA y DHA libres (sin digestión de triglicéridos) usando una extracción líquido-líquido seguida por UHPLC/MS/MS con un LLQ de 0,05 µg/ml. Para tener en cuenta los niveles endógenos de EPA y DHA, se corrigieron los datos de concentración en plasma mediante la resta de los valores de EPA y DHA antes de la dosis para proporcionar la $C_{\text{máx}}$ corregida ($C_{\text{máx corr}}$) y se multiplicó la concentración en plasma antes de la dosis por 8 horas y después se restó del AUC_{0-8} para proporcionar valores de AUC_{0-8} corregida ($AUC_{0-8 corr}$). Se supone que la concentración de compuestos totales menos libres es una función de la concentración de EPA o DHA incorporada en (“unida”) y en circulación dentro de quilomicrones en la circulación sistémica.

Estudio A:

Fórmulas de prueba:

Formulación	% en peso del total		
	Aceite K85EE	Cremophor ELP	Agua

1 – El 100% de K85EE	100	0	0
2 – El 25% de emulsión líquida de K85EE	25	6	69

Se preparó la fórmula 2 mezclando Cremophor ELP con aceite K85EE hasta que fue uniforme, añadiendo después la mezcla a agua con mezclado.

Se administraron o bien aceite K85EE o bien la fórmula de emulsión líquida 2 a perros (n = 8/grupo, diseño cruzado con un periodo de lavado de 2 semanas entre dosificaciones; n = 4/grupo en cada día de tratamiento).

- 5 En el día de estudio 1, se extrajeron muestras de sangre de los perros sometidos a ayunas a lo largo del transcurso de 8 horas, sin administrarse dosis de ninguna formulación. En el día de estudio 2, se administraron la formulación de referencia y de emulsión a 4 perros cada una mediante sonda oral, aclarando el tubo de dosificación con aproximadamente 10 ml de agua. En el día de estudio 3, se tomó otro perfil de blanco tal como se realizó en el día 1. Tras una semana adicional (lavado), tiene lugar el cruce en el día de estudio 4.
- 10 Las dosis medias de EPA y DHA inicialmente administradas fueron de 29,6 y 22,7 mg/kg para K85EE y 30,2 y 23,0 mg/kg para la formulación 2; las dosis de cruce medias posteriormente administradas fueron de 29,4 y 22,5 mg/kg para K85EE y 30,0 y 22,8 mg/kg para la formulación 2.

- 15 Se determinaron EPA y DHA tanto libres como unidos para cada muestra. Se genera plasma a partir de cada muestra mediante centrifugación y se congela hasta el momento del análisis. Se toman dos alícuotas para el análisis: se somete a ensayo la alícuota A para determinar EPA y DHA libres. Se somete la alícuota B a un procedimiento de digestión usando hidrólisis alcalina en la que se digiere cualquier TAG presente que circula en la sangre dentro de quilomicrones seguido por análisis de EPA y DHA liberados.

- 20 Para análisis de EPA/DHA totales y libres, se usó albúmina sérica humana en polvo, liofilizada, a ~99% (mediante electroforesis en gel de agarosa), esencialmente libre de ácidos grasos (Sigma) como matriz sustituta para el ensayo. Debido a los niveles de ácidos grasos endógenos en el plasma de perro, se validó esta matriz como sustituto apropiado para la preparación de patrones y muestras de control de calidad (QC). Se analizaron muestras de QC, preparadas a 3 concentraciones de analito diferentes y almacenadas con muestras del estudio, con cada lote de muestras frente a patrones de calibración preparados por separado. Para un análisis aceptable, no más de 1/3 de los resultados de QC debían desviarse de la concentración nominal en más del 15%, y al menos el 50% de los resultados de cada concentración de QC debía estar dentro del 15% de lo nominal.
- 25

El método de extracción se basa en S.A. Lagerstedt *et al.*, Molecular Genetics and Metabolism 73, 38-45 (2001), modificado para tener compatibilidad con sistemas de UHPLC-MS/MS.

- 30 Para la extracción de DHA y EPA libres, se introducen alícuotas de 50 µl de muestra de prueba (plasma humano, 25 µl), patrón o muestra de QC en viales/tubos. Se añaden 50 µl de acetonitrilo a blanco doble, y se añaden 50 µl de disolución de trabajo de patrón interno (500 ng/ml de EPA y DHA deuterados) a todos los demás viales/tubos. Se acidifican las muestras y después se extraen con hexano. Tras mezclar, se transfiere el sobrenadante a una placa que contiene insertos de vidrio silanizado, se evapora a 40°C bajo N₂ y se reconstituye con acetonitrilo/agua 50/50. Entonces puede realizarse el análisis para determinar EPA y DHA usando el UHPLC-MS/MS.

- 35 Para la extracción de DHA y EPA totales, se introducen alícuotas de 50 µl de muestra de prueba (plasma humano, 25 µl), patrón o muestra de QC en viales/tubos micrónicos. Se añaden 100 µl de acetonitrilo a blanco doble, y se añaden 100 µl de disolución de trabajo de patrón interno (500 ng/ml de EPA y DHA deuterados) a todos los demás viales/tubos. La digestión inicial implica la adición de acetonitrilo/HCl 6 N 90/10 a todas las muestras. Se sella la placa y se mezcla, seguido por incubación durante aproximadamente 45 min a aproximadamente 104°C. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se añade metanol/NaOH 10 N 90/10 a todos los pocillos, se tapa la placa, se mezcla y después se incuba como anteriormente. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se mezcla la placa y se centrifuga, y se transfieren 200 µl del sobrenadante a una placa limpia. Se añade HCl 6 N seguido por hexano a todos los pocillos. Se tapa la placa, se mezcla durante aproximadamente 5 min, después se centrifuga. Se transfiere el sobrenadante a una placa que contiene insertos de vidrio silanizado, y se evapora a 40°C bajo N₂. Se reconstituyen muestras con acetonitrilo/agua 50/50, se mezclan, se centrifugan y después se analizan para determinar EPA y DHA totales.
- 45

Puede lograrse la separación mediante CL en menos de 1,5 minutos usando una columna Acquity UPLC BEH C18, de 50x2,1 mm, 1,7 µm, con condiciones de gradiente. Pueden usarse equipos de UHPLC equivalentes, alternativos, y pueden realizarse cambios menores en las condiciones cromatográficas.

- 50 Se generan perfiles de concentración en plasma frente al tiempo para 1) EPA y DHA libres de la alícuota A; 2) EPA y DHA unidos de la alícuota B; 3) subtotal de EPA más DHA en TAG de la alícuota B, y 4) total global de EPA y DHA libres más EPA y DHA unidos. Se calculan AUC_(0-t), C_{máx} y T_{máx} para cada una de las cuatro condiciones por animal por formulación. La biodisponibilidad relativa ("F") puede calcularse para cada formulación de prueba como:

$$F = \text{AUC}_{(0-t)} \text{ de formulación de prueba} / \text{AUC}_{(0-t)} \text{ de formulación de referencia}$$

Los resultados se muestran en la tabla 1:

Tabla 1

Formulación	Razones de exposición relativa ^a							
	EPA total		DHA total ^b		EPA libre		DHA libre	
	C _{máx}	AUC ₀₋₈	C _{máx}	AUC ₀₋₈	C _{máx}	AUC ₀₋₈	C _{máx}	AUC ₀₋₈
1 – El 100% de K85EE	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
2 – El 25% de emulsión líquida de K85EE ^c	3,38	3,65	4,82	4,61	1,80	1,94	2,82	2,69

Los valores de datos representan la media para cada razón de exposición, con n = 8 perros/grupo (diseño cruzado con un periodo de lavado de 2 semanas), a menos que se mencione lo contrario.

5 ^a = Las razones de exposición (el 25% de K85EE/el 100% de K85EE) para EPA (total y libre) y DHA (total y libre) se calcularon a partir de valores corregidos de C_{máx} y AUC₀₋₈ (C_{máx corr} y AUC_{0-8 corr}).

^b = Las razones se calcularon a partir de 3 perros excluyendo correcciones de nivel inicial que proporcionaron valores negativos.

^c = mediana del tamaño de partícula de emulsión (D50) de 2,8 µm

10 Tras la administración de la formulación de emulsión 2, los valores de C_{máx corr} y AUC_{0-8 corr} para EPA y DHA totales eran al menos 3 ó 4 veces mayores que los de K85EE. Los valores correspondientes para EPA y DHA libres también aumentaron con respecto a K85EE. Estos datos proporcionan evidencias de una absorción y biodisponibilidad sistémicas potenciadas de la formulación de emulsión 2 para EPA y DHA en comparación con K85EE.

15 Estudio B:

En el segundo estudio, se administraron seis formulaciones de K85EE (cinco cápsulas de preconcentrado y una líquida (mediante sonda)), a perros (n=4/grupo). Se realizó el estudio en seis días de estudio separados.

Fórmulas de prueba:

Formulación	% en peso del total			
	Aceite K85EE	Cremophor ELP	Polisorbato 80	Etanol
3 – cápsula	66	15	15	4
4 – cápsula	70	0	30	0
5 – cápsula	77	20	0	3
6 – cápsula	88	5	5	2
7 – como emulsión líquida ^a	66	15	15	4
8 – cápsula	90	0	7	3

20 ^a Dispersado en agua a una concentración final del 25% de formulación de preconcentrado de emulsión y el 75% de agua.

Se prepararon las formulaciones 3-6 y 8 añadiendo el/los tensioactivo(s) al aceite K85EE con mezclado (agitador magnético). Cuando se usó Cremophor ELP, se calentó hasta 30°C antes de la adición al aceite. Se rellenó la mezcla en cápsulas de gelatina duras usando una pipeta.

25 Se preparó la formulación 7 mezclando los tensioactivos con aceite K85EE hasta que fueron uniformes, añadiendo después la mezcla a agua con mezclado. Cuando se usó Cremophor ELP, se calentó hasta 30°C según fue necesario para fundirse y se mezcló con los otros componentes.

Se sometieron a ensayo EPA y DHA libres y totales de la manera descrita anteriormente.

30 Se realizó un análisis farmacocinético (PK) de datos de concentración en plasma de EPA y DHA libres y totales-tiempo, siguiendo correcciones de nivel inicial apropiadas de EPA y DHA endógenos usando métodos no compartimentales para obtener estimaciones de parámetros PK cuando era posible. La biodisponibilidad relativa ("F") se calcula como:

$$F = \text{AUC}_{(0-8)} \text{ de formulación de prueba} / \text{AUC}_{(0-8)} \text{ de formulación de referencia}$$

Se compararon valores de C_{máx corr} media y AUC_{0-8 corr} media con datos de aceite K85EE (fórmula 1) del estudio A y se expresaron de manera similar como razones. Los resultados se muestran en la tabla 2:

Tabla 2

Formulación (mediana del tamaño de partícula de la emulsión)	Razones de exposición ^a							
	Total EPA		Total DHA		Free EPA		Free DHA	
	C _{máx}	AUC ₀₋₈	C _{máx}	AUC ₀₋₈	C _{máx}	AUC ₀₋₈	C _{máx}	AUC ₀₋₈
3 – (130 nm)	2,75	2,70	2,76	2,00	3,56	2,28	4,36	2,97
4 – (150 nm)	2,11	2,29	1,98	2,12	1,40	1,41	1,54	1,60
5 – (1,8 µm)	2,83	2,82	3,29	2,72	1,77	1,46	2,58	1,96
6 – (6,3 µm)	1,42	1,46	1,34	1,00	1,41	1,16	1,60	1,19
7 – (130 nm)	3,78	3,34	3,51	2,60	2,62	2,23	3,99	2,89
8 – (12,8 µm)	0,96	0,89	0,64	0,64	0,78	0,71	0,75	0,73

^a = Las razones de exposición relativa (formulación de prueba/el 100% de K85EE) para EPA y DHA (cada uno total y libre) se calcularon a partir de valores corregidos de C_{máx} y AUC₀₋₈ (C_{máx corr} y AUC_{0-8 corr}).

n=4 perros/grupo.

- 5 Tras la administración de las formulaciones de emulsión 3, 4, 5 ó 7 (que tenían una mediana del tamaño de partícula de desde 130 nm - 1,8 µm tal como se muestra), los valores totales de AUC_{0-8 corr} para EPA y DHA fueron al menos 2 ó 3 veces mayores que los de K85EE. Los valores correspondientes para EPA y DHA libres también aumentaron con respecto a K85EE. La formulación 6 (mediana del tamaño de partícula de 6,3 µm) no mostró ningún aumento, o mostró un aumento menor, en los valores totales de C_{máx 0-8 corr} y AUC_{0-8 corr} para EPA y DHA en comparación con K85EE. La formulación 8 (mediana del tamaño de partícula de 12,8 µm) mostró una exposición reducida (valores de C_{máx corr} y AUC_{0-8 corr} para EPA y DHA tanto totales como libres), en comparación con K85EE.

Ejemplo 4 – Estudio clínico

- 15 Se llevó a cabo un estudio para evaluar la biodisponibilidad relativa de EPA y DHA en plasma tras la administración oral de cápsulas de preconcentrado de emulsión y/o emulsión líquida de K85EE, en comparación con K85EE comercial (por ejemplo cápsulas de LOVAZA®), y cualquier aumento relacionado con la dosis de la incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos tras la dosificación repetida con emulsión.

La parte A comprendió la administración de una única dosis de cápsulas de preconcentrado de emulsión o emulsión líquida equivalente a 1,68 g de LOVAZA®. La parte B comprendió una dosificación repetida, de dos semanas, de dosis seleccionadas de las cápsulas de preconcentrado de emulsión.

- 20 Los criterios de valoración primarios fueron: para la parte A, AUC_(0-∞) y C_{máx} de EPA y DHA libres y totales (corregidos a partir del nivel inicial) tras una única dosis; y para la parte B, AUC_(0-24 h) y C_{máxss} tanto para EPA como para DHA (totales y libres; corregidos para el nivel inicial); y la incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos en plasma (absoluta y cambio en % desde el nivel inicial).

- 25 Más específicamente, la parte A fue un estudio abierto, aleatorizado, de grupos paralelos, en sujetos adultos sanos para comparar la biodisponibilidad relativa de una única dosis de un preconcentrado de emulsión de K85EE encapsulado con cápsulas de LOVAZA® comercialmente disponibles, y con una formulación de emulsión líquida preparada a partir de las cápsulas de preconcentrado. Se aleatorizaron dieciséis sujetos sanos que cumplieran los criterios de elegibilidad a cada uno de los 3 grupos de tratamiento paralelos (objetivo de que al menos 12 sujetos completen el estudio). Los sujetos elegibles ingresaron en la unidad clínica en el día -2 y se les realizaron extracciones farmacocinéticas de EPA/DHA de 24 h en el día -1 y en el día 1.

- 30 En la parte B se estudiaron además tres dosis de cápsulas de preconcentrado de emulsión. Los sujetos de la parte A participaron en la parte B tras un periodo de lavado de al menos 3 semanas.

- 35 La parte B fue un estudio ciego simple, aleatorizado, de grupos paralelos, controlado por placebo que consistió en un periodo de dosis repetidas de 2 semanas con 3 niveles de dosis de las cápsulas de preconcentrado de emulsión de K85EE, y una dosis de LOVAZA®. Dentro de cada cohorte, se aleatorizaron al menos ocho sujetos sanos a un grupo de tratamiento activo, y se aleatorizaron al menos 2 sujetos a un placebo coincidente (cápsula de 1000 mg que contenía 994 mg de aceite de maíz, NF y 6 mg de D-alfa-tocoferol, USP). Se combinaron los datos de sujetos con placebo para el análisis. Sujetos, que ingresaron en la unidad de investigación clínica, participaron en una comida de prueba en el día -2 y se les realizaron perfiles de EPA/DHA de nivel inicial de 24 h en el día -1 y el día 1. Se dio el alta a los sujetos de la clínica en el día 2, y volvieron para una dosificación diaria en los días 3 a 12 (con una breve visita ambulatoria en el día 6). Los sujetos ingresaron de nuevo en la clínica por la tarde del día 12, y en el día 13 se les tomaron perfiles de EPA/DHA de 24 h. Se dio el alta a los sujetos de la clínica en el día 14, tras procedimientos que incluyeron una comida de prueba y una toma de muestras de triglicéridos.

En resumen, en la parte A se asignaron sujetos a recibir una única dosis de uno de los siguientes tratamientos:

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Dosis	Número de cápsulas
A	Cápsula de preconcentrado de emulsión de K85EE	1,68 g	2
B	Emulsión líquida de K85EE	1,68 g	NA

C	LOVAZA®	4g	4
---	---------	----	---

Sumario de la dosificación/administración de la parte A:

Nombre del producto:	Cápsula de preconcentrado de emulsión	Emulsión líquida	LOVAZA®
Formulación:	Cápsula de preconcentrado de emulsión de K85EE ¹	Cápsula de preconcentrado de emulsión de K85EE ¹	Formulación comercialmente disponible
Forma de dosificación:	Cápsula	Líquido preparado a partir de cápsula	Cápsula
Concentración / concentraciones / nivel(es) de dosificación de dosis unitaria:	Dos cápsulas que comprenden 1200 mg de preconcentrado (que contienen 840 mg de K85EE) / cápsula	Dos cápsulas que comprenden 1200 mg de preconcentrado (que contienen 840 mg de K85EE) / cápsula, contenido dispersado en 200 ml de zumo de manzana para formar una emulsión ²	Cuatro cápsulas de 1 g
Instrucciones de dosificación:	Administrado por vía oral en estado de ayunas ³ con 400 ml de zumo de manzana.	Administrado por vía oral en estado de ayunas ³ . Se abren las cápsulas, se pesan y se administran con aproximadamente 200 ml y se aclaran para extraer la dosis que queda con 200 ml adicionales de zumo de manzana.	Administrado por vía oral en estado de ayunas ³ con 400 ml de zumo.

¹ Formulación (9): K85EE al 70% en peso, Cremophor ELP al 4,5% en peso, polisorbato 80 al 25,5% en peso, basándose en la cantidad total de K85EE y tensioactivos, y que contiene aproximadamente el 0,8-0,9% en peso de agua basándose en el peso total de la composición. Tras dispersión en agua, la emulsión resultante tenía una mediana del tamaño de partícula de 0,14 µm (140 nm), x90 de 0,45 µm

² Tras la dispersión en zumo de manzana, la emulsión resultante tenía una mediana del tamaño de partícula de 150 nm

³ Mínimo de 10 h en ayunas

En la parte B, se asignaron sujetos a a) uno de 3 niveles de dosis de las cápsulas de preconcentrado de emulsión de K85EE, b) LOVAZA®, o c) placebo para coincidir con uno de los 4 tratamientos activos. Los sujetos eran ciegos en cuanto a si estaban recibiendo un tratamiento activo o el placebo correspondiente. La razón de aleatorización para compuesto activo:placebo dentro de cada cohorte era de 4:1. Los tratamientos de la parte B se resumen a continuación:

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Dosis ¹	Número de cápsulas
D	Cápsula de preconcentrado de emulsión de K85EE	0,84 g	1
E	Cápsula de preconcentrado de emulsión de K85EE	1,68 g	2
F	Cápsula de preconcentrado de emulsión de K85EE	3,36 g	4
G	LOVAZA®	4 g	4
H	Placebo para el tratamiento D	0	1
I	Placebo para el tratamiento E	0	2
J	Placebo para el tratamiento F	0	4
K	Placebo para el tratamiento G	0	4

Las cápsulas de preconcentrado de emulsión de K85EE y LOVAZA® se administraron como cápsulas, una vez al día de la manera descrita para la parte A, y los placebos se administraron como el tratamiento activo correspondiente. Sólo se requirió que los sujetos ayunaran en los días de extracciones de muestras PK.

La formulación de preconcentrado de emulsión era como para la parte A. Las cápsulas de preconcentrado de emulsión se formaron mediante encapsulación directa de una mezcla que comprendía el aceite K85EE y tensioactivo en cápsulas de gelatina blanda. Se combinaron K85EE y tensioactivo y se añadió aproximadamente el 1% en peso de agua y se mezclaron para formar una disolución homogénea, que se encapsuló usando encapsulación rotativa (masa de gel que comprendía gelatina, glicerol y agua), para formar cápsulas de tamaño 22 ó 24 oblongas con un peso de cubierta nominal de 675 mg, peso de relleno de 1200 mg, y grosor de sello mínimo de 0,010 pulgadas. Se secaron las cápsulas hasta obtener una dureza de al menos 8,5 Newton (secado en una secadora rotatoria durante aproximadamente 60 minutos seguido por secado en túnel en bandejas poco profundas, comprobando generalmente la dureza al menos aproximadamente dos veces al día), y se limpiaron con alcohol

isopropílico para eliminar aceite lubricante usado durante el procedimiento.

Se determinaron las concentraciones de EPA y DHA en plasma según el método anterior.

5 También se determinó la concentración de EPA y DHA en fosfolípidos en plasma. Se descongelaron muestras de plasma y se transfirieron 100 µl a un tubo de ensayo de vidrio. Se añadieron 2 ml de cloruro de metileno, 2 ml de metanol y 1 ml de agua destilada y se agitó el tubo (Multivortex, 2 min), después se centrifugó (3000 rpm, 10 min) para separar las fases orgánica y acuosa. Se cargaron 200 µl de la fase orgánica sobre una placa de cromatografía de capa fina de gel de sílice G usando un instrumento Autospotter. Se revela la placa con hexano:etil éter:ácido acético (240:60:4,5 v/v/v), y cuando el disolvente alcanza la línea central de la placa, se retira la placa y se seca (campana) durante aproximadamente 5 min. Después se coloca la placa en un tanque de yodo elemental para detectar la banda de fosfolípido (origen), se retira y se proporcionan 10-15 minutos para disipar el yodo. Se raspan las bandas en un vial de reacción que contiene 250 µl de BF₃-metanol y 250 µl de hexano. Se tapa el vial y se calienta (10 min, 100°C). Tras enfriar, se añaden 250 µl de agua, se tapa el tubo y se agita con vórtex durante 30 s y se centrifuga como anteriormente para separar las fases. Se transfieren 50 µl de la fase de hexano a un vial de CG (cromatografía de gases) y se analizan mediante CG (GC2010, Shimadzu, Columbia MD, con columna capilar SP2560, 100 m, Supelco, Bellefonte PA; 1,75 min a 180°C, rampa de 5°C/min hasta 200°C, 1,75 min a 200°C, rampa de 10°C/min hasta 240°C, 4,5 min a 240°C; portador de hidrógeno; o condiciones equivalentes).

Los resultados del estudio incluyeron lo siguiente.

Parte A:

20 Las tablas 3-4 a continuación resumen algunos datos de AUC y C_{máx} en plasma para EPA y DHA totales y libres, corregidos para el nivel inicial, obtenidos para los regímenes en la parte A (día de visita 1).

Tabla 3: EPA y DHA totales – AUC y C_{máx} en plasma (corregidos para el nivel inicial)¹

Régimen	EPA total		DHA total	
	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ug·h/ml)	C _{máx} (ug/ml)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ug·h/ml)	C _{máx} (ug/ml)
A	278 (232, 332) 34,5	26,9 (22,3, 32,6) 36,8	121 (89,6, 162) 60,3	20,3 (16,4, 25,1) 41,6
B	440 (377, 514) 29,8	41,8 (34,3, 50,9) 38,5	213 (151, 301) 72,2	35,5 (28,2, 44,8) 45,5
C	54,3 (30,5, 96,7) 130,7	4,77 (2,79, 8,15) 132	22,2 (5,68, 86,4) 363	6,38 (4,22, 9,64) 90,9

1. Datos notificados como media geométrica (IC del 95%) de CVb%. A menos que se mencione lo contrario, N=16 para cada régimen.

Leyenda de régimen:

25 A - Cápsula de emulsión, 1,68 g

B - Emulsión líquida, 1,68 g

C - LOVAZA, 4 g

Tabla 4: EPA y DHA libres – AUC y C_{máx} en plasma (corregidos para el nivel inicial)¹

Régimen	EPA total		DHA total	
	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ug·h/ml)	C _{máx} (ug/ml)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ug·h/ml)	C _{máx} (ug/ml)
A	1,26 (0,951, 1,68) 52,4 ²	0,178 (0,148, 0,215) 33,6 ²	2,72 (2,28, 3,25) 33,9	0,502 (0,430, 0,587) 30,0
B	2,10 (1,77, 2,49) 29,0 ³	0,305 (0,243, 0,383) 39,2 ³	4,97 (4,36, 5,67) 25,1	0,931 (0,750, 1,16) 42,3
C	0,275 (0,101, 0,748) 211	0,042 (0,026, 0,066) 106	0,528 (0,212, 1,31) 230	0,282 (0,211, 0,377) 59,0

1. Media geométrica (IC del 95%) de CVb%. A menos que se mencione lo contrario, N=16 para cada régimen.

30 2. n = 14.

3. n = 13.

Leyenda de régimen:

A - Cápsula de emulsión, 1,68 g

B - Emulsión líquida, 1,68 g

5 C - LOVAZA, 4 g

10 Los valores medios de $C_{\text{máx}}$ y AUC para EPA y DHA libres y totales fueron varias veces mayores para los sujetos a los que se les administraron dosis con las cápsulas de emulsión y la emulsión líquida en comparación con el tratamiento con LOVAZA. Estos parámetros PK fueron aproximadamente 2 veces mayores para los sujetos a los que se les administraron dosis con la emulsión líquida con respecto a los que se les administraron dosis con la cápsula de emulsión. Se observó una variabilidad entre sujetos de moderada a alta para las estimaciones de $C_{\text{máx}}$ y AUC. La variabilidad entre sujetos fue menor para sujetos a los que se les administraron dosis con las cápsulas de emulsión o la emulsión líquida, en comparación con el tratamiento con LOVAZA. Por tanto, las composiciones de la invención pueden proporcionar una mejor predictibilidad en la dosificación/establecimiento de dosis.

15 Los análisis estadísticos incluyeron la comparación de los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{(0-24)}$ corregidos para el nivel inicial, normalizados para la dosis, de los regímenes de cápsulas de emulsión, emulsión líquida y LOVAZA de la parte A, e incluyeron resultados mostrados en la tabla 5.

Tabla 5: Estimaciones puntuales e IC del 90% para comparaciones de parámetros farmacocinéticos (PK) corregidos para el nivel inicial, normalizados para la dosis, en el día 1 (tras una única dosificación de formulaciones en la parte A)

Analito	Parámetro PK ¹	Comparación ²	Media geométrica de LS ³ (x10 ³)		Razón	IC del 90%	CVb(%)
			Prueba	Referencia			
EPA total	AUC _(0-24 h) (ug·h/ml)	A:C	401,35	28,36	14,15	9,78, 20,49*	64,26
		B:C	601,45	28,36	21,21	14,75, 30,50*	
		A:B	401,35	601,45	0,67	0,47, 0,95	
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	A:C	39,41	2,46	16,02	10,94, 23,46*	69,12
		B:C	57,32	2,46	23,29	16,04, 33,84*	
		A:B	39,41	57,32	0,69	0,47, 1,00	
DHA total	AUC _(0-24 h) (ug·h/ml)	A:C	183,37	17,53	10,46	5,68, 19,26*	97,18
		B:C	383,27	17,53	21,86	12,03, 39,72*	
		A:B	183,37	383,27	0,48	0,29, 0,79*	
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	A:C	34,57	4,49	7,70	5,42, 10,96*	61,81
		B:C	60,40	4,49	13,46	9,58, 18,91*	
		A:B	34,57	60,40	0,57	0,41, 0,81	
EPA libre	AUC _(0-24 h) (ug·h/ml)	A:C	1,75	0,14	12,25	7,34, 20,46*	80,28
		B:C	2,97	0,14	20,85	12,36, 35,17*	
		A:B	1,75	2,97	0,59	0,37, 0,93	
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	A:C	0,24	0,02	10,74	7,43, 15,54*	65,62
		B:C	0,42	0,02	18,61	12,76, 27,13*	
		A:B	0,24	0,42	0,58	0,39, 0,85	
DHA libre	AUC _(0-24 h) (ug·h/ml)	A:C	4,66	0,37	12,56	7,73, 20,43*	84,12
		B:C	8,42	0,37	22,68	13,99, 36,75*	
		A:B	4,66	8,42	0,55	0,36, 0,86	
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	A:C	0,88	0,19	4,55	3,50, 5,91*	44,37
		B:C	1,59	0,19	8,24	6,38, 10,63*	
		A:B	0,88	1,59	0,55	0,43, 0,71*	

20 A = 1,68 g, cápsula de emulsión. (Dosis: EPA, 726 mg; DHA, 588 mg)

B = 1,68 g, emulsión líquida. (Dosis: EPA, 726 mg; DHA, 588 mg)

C = 4 g, LOVAZA. (Dosis: EPA, 1832 mg; DHA, 1416 mg)

* = la comparación fue estadísticamente significativa al nivel del 10%.

1. Parámetros farmacocinéticos normalizados para la dosis y corregidos para el nivel inicial.

25 2. Analizado usando ANCOVA, ajustando efectos fijos para el tratamiento, e incluyendo valor de nivel inicial como covariable.

3. $\times 10^3$ para mantener la precisión.

Los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{(0-24)}$ de EPA/DHA libres y totales fueron significativamente mayores tanto con la cápsula de emulsión como con la emulsión líquida con respecto a LOVAZA, 4 g. En comparación con LOVAZA, 4 g, los valores de $AUC_{(0-24)}$ corregidos para el nivel inicial de EPA y DHA libres y totales fueron de 10 a 14 veces mayores para la cápsula de emulsión y de 21 a 23 veces mayores para la emulsión líquida. Los IC del 90% asociados con los valores de $AUC_{(0-24)}$ corregidos para el nivel inicial de EPA y DHA libres y totales estaban completamente fuera del intervalo de 0,8 a 1,25.

Los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{(0-24)}$ de EPA/DHA libres y totales fueron significativamente mayores para la formulación de emulsión líquida que para la cápsula de emulsión. En comparación con la cápsula de emulsión, los valores de $AUC_{(0-24)}$ corregidos para el nivel inicial de EPA y DHA libres y totales fueron del 33 al 52% mayores para la emulsión líquida. Sin pretender vincularse o limitarse a la teoría, se cree que la emulsión líquida es menos propensa a variaciones en la actividad digestiva, incluyendo condiciones del tracto GI y tránsito, y por tanto muestra una mayor exposición con respecto a la cápsula de preconcentrado de emulsión. Esta mayor exposición puede aproximarse a la exposición máxima que puede lograrse posiblemente con una cápsula de emulsión correspondiente. Se prefiere la forma de cápsula, por ejemplo para proporcionar protección frente a la degradación, así como por facilidad de uso y cumplimiento del paciente.

Parte B:

Las tablas 6 y 7 resumen algunos datos de AUC y $C_{\text{máx}}$ en plasma para EPA/DHA totales y libres, corregidos para el nivel inicial, obtenidos para los regímenes en la parte B.

Tabla 6: Parámetros farmacocinéticos de EPA y DHA totales en plasma: parte B (0-24 horas), corregidos para el nivel inicial¹

Visita	Régimen	EPA total			DHA total		
		n	$AUC_{(0-24)}$ (ug·h/ml)	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	n	$AUC_{(0-24)}$ (ug·h/ml)	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)
Día 1	D	11	161 (127, 204) 36,8	13,7 (10,3, 18,2) 44,5	11	35,8 (16,7, 76,8) 163	10,8 (6,95, 16,7) 72,6
	E	8	261 (189, 361) 40,3	26,6 (18,8, 37,6) 43,2	8	144 (87,4, 236) 57,9	20,5 (12,6, 33,4) 63,7
	F	10	519 (351, 769) 59,3	53,5 (36,6, 78,4) 57,3	10	219 (138, 349) 72,2	39,1 (26,3, 58,2) 60,0
	G	9	48,5 (16,5, 143) 208	4,23 (2,21, 8,10) 102	9	15,2 (2,22, 104) 182	3,37 (1,91, 5,93) 84,7
	P	9	24,7 (17,2, 35,4) 45,2	2,17 (1,17, 4,02) 95,3	9	16,5 (2,19, 124) 200	2,70 (1,38, 5,29) 107
Día 13	D	10	368 (258, 524) 52,6	22,7 (15,3, 33,6) 59,4	10	368 (244, 557) 62,9	25,9 (16,5, 40,8) 70,3
	E	8	649 (523, 805) 26,3	43,0 (33,9, 54,5) 29,0	8	675 (522, 872) 31,4	44,5 (33,8, 58,8) 34,1
	F	10	1190 (936, 1520) 34,8	82,3 (63,8, 106) 36,8	10	1040 (772, 1390) 42,9	74,5 (56,1, 98,9) 41,2
	G	9	372 (193, 718) 104	21,2 (11,7, 38,4) 90,3	9	454 (269, 765) 76,6	27,9 (18,4, 42,3) 58,3
	P	9	13,4 (5,98, 29,9) 72,3	1,29 (0,608, 2,75) 97,5	9	53,6 (4,92, 584) 27,1	2,96 (0,265, 33,1) 300

1. Media geométrica (IC del 95%) de CVb%.

Leyenda de régimen:

D = Cápsula de emulsión, 0,84 g (N = 11).

E = Cápsula de emulsión, 1,68 g (N = 8).

F = Cápsula de emulsión, 3,36 g (N = 10).

G = LOVAZA, 4 g (N = 9).

P = Placebo (combinado) (N = 9).

Tabla 7: Parámetros farmacocinéticos de EPA y DHA libres en plasma: parte B (0-24 horas), corregidos para el nivel inicial¹

Visita	Régimen	EPA libre			DHA libre		
		n	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ug·h/ml)	C _{máx} (ug/ml)	n	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ug·h/ml)	C _{máx} (ug/ml)
Día 1	D	10	0,673 (0,446, 1,02) 40,9	0,053 (0,032, 0,089) 82,6	11	0,648 (0,288, 1,46) 182	0,324 (0,268, 0,392) 29,0
	E	7	1,21 (0,736, 1,97) 57,3	0,155 (0,103, 0,233) 46,2	8	2,70 (1,64, 4,43) 64,9	0,443 (0,306, 0,643) 46,8
	F	10	2,72 (2,22, 3,33) 28,7	0,356 (0,267, 0,476) 42,1	10	4,36 (3,57, 5,33) 28,7	0,817 (0,585, 1,14) 49,4
	G	7	0,515 (0,179, 1,48) 103	0,032 (0,012, 0,088) 154	9	0,615 (0,219, 1,73) 128	0,201 (0,139, 0,291) 50,8
	P	8	0,442 (0,128, 1,53) 174	0,047 (0,030, 0,076) 61,7	9	0,300 (0,084, 1,08) 239	0,303 (0,232, 0,397) 36,1
Día 13	D	9	1,02 (0,528, 1,96) 92,3	0,102 (0,070, 0,150) 53,2	10	2,48 (1,94, 3,16) 35,1	0,455 (0,354, 0,585) 36,2
	E	7	2,58 (1,90, 3,49) 33,9	0,228 (0,172, 0,301) 30,9	8	5,25 (3,93, 7,01) 35,7	0,653 (0,530, 0,806) 25,5
	F	10	6,04 (4,88, 7,47) 30,4	0,608 (0,494, 0,748) 29,6	10	9,69 (8,09, 11,6) 25,7	1,38 (1,18, 1,61) 22,3
	G	8	1,62 (0,703, 3,74) 131	0,134 (0,063, 0,282) 110	9	3,28 (1,70, 6,31) 103	0,529 (0,327, 0,856) 69,3
	P	8	0,509 (0,138, 1,88) 142	0,034 (0,019, 0,061) 68,8	9	-0,166 ² (-0,736, 0,403) 452	0,228 (0,147, 0,354) 62,4

1. Media geométrica (IC del 95%) de CVb%.

2. Se observó una media aritmética (IC del 95%) de CVb% presentada como datos positivos limitados cuando sometió el AUC a transformación logarítmica.

Leyenda de régimen:

10 D = Cápsula de emulsión, 0,84 g (N = 11).

E = Cápsula de emulsión, 1,68 g (N = 8).

F = Cápsula de emulsión, 3,36 g (N = 10)

G = LOVAZA, 4 g (N = 9).

P =Placebo (combinado) (N = 9).

15 Los valores de C_{máx} y AUC₍₀₋₂₄₎ de EPA/DHA libres y totales fueron generalmente mucho menores para el grupo de

placebo combinado en comparación con la exposición de los sujetos a los que se les administraron dosis con los 3 niveles de dosis de cápsulas de emulsiones o LOVAZA. Los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{(0-24)}$ aumentaron con el aumento de la dosis de cápsula de emulsión de K85EE desde 0,84 g hasta 3,36 g para EPA/DHA libres y totales. Los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{(0-24)}$ de EPA/DHA libres y totales fueron mayores en el día 13 que en el día 1, lo que indica acumulación de EPA/DHA libres y totales tras la dosificación repetida usando tanto las cápsulas de emulsión como LOVAZA. Se observó una variabilidad entre sujetos de moderada a alta con las estimaciones de $C_{\text{máx}}$ y AUC de EPA y DHA libres y totales.

Se llevó a cabo un análisis paramétrico para la evaluación de la acumulación de EPA/DHA libres y totales tras la dosificación repetida para cada uno de los regímenes de la parte B e incluyó los resultados mostrados en la tabla 8.

Tabla 8: Resultado de análisis paramétrico para la evaluación de la acumulación de EPA/DHA libres y totales tras la dosificación repetida de formulaciones en la parte B

Analito	Parámetro ¹	Comparación	Régimen	Media geométrica de LS		Razón	IC del 90%	CVw (%)	CVb (%)
				Prueba	Ref.				
EPA total	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	Día 13:día 1	D	570,78	353,88	1,61	1,36, 1,91 ^{**}	23,24	28,36
			E	796,01	447,59	1,78	1,47,2,16 ^{**}		
			F	1433,62	736,47	1,95	1,64,2,31 ^{**}		
			G	611,34	251,67	2,43	2,03,2,91 ^{**}		
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	Día 13:día 1	D	30,87	21,90	1,41	1,19,1,67 [*]	22,96	33,37
			E	47,81	33,20	1,44	1,19,1,74 [*]		
			F	93,55	63,98	1,46	1,23,1,73 [*]		
			G	30,84	12,86	2,40	2,00,2,87 ^{**}		
DHA total	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	Día 13:día 1	D	1208,08	875,80	1,38	1,27, 1,50 ^{**}	11,03	14,26
			E	1486,63	967,60	1,54	1,40, 1,69 ^{**}		
			F	1910,92	1077,14	1,77	1,63, 1,93 ^{**}		
			G	1356,51	810,21	1,67	1,53, 1,83 ^{**}		
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	Día 13:día 1	D	60,66	45,92	1,32	1,21, 1,44 ^{**}	11,40	19,74
			E	77,67	56,18	1,38	1,26, 1,52 ^{**}		
			F	111,47	76,86	1,45	1,33, 1,58 ^{**}		
			G	65,37	38,29	1,71	1,56, 1,87 ^{**}		
EPA libre	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	Día 13:día 1	D	2,62	1,69	1,55	1,30, 1,84 ^{**}	22,36	31,04
			E	3,99	2,73	1,46	1,20, 1,79 [*]		
			F	7,31	3,93	1,86	1,57,2,20 ^{**}		
			G	3,22	1,66	1,94	1,59,2,36 ^{**}		
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	Día 13:día 1	D	0,18	0,13	1,40	1,14,1,71 [*]	26,46	32,70
			E	0,29	0,22	1,30	1,03,1,64 [*]		
			F	0,66	0,41	1,62	1,33,1,97 [*]		
			G	0,20	0,09	2,10	1,67,2,64 ^{**}		
DHA libre	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	Día 13:día 1	D	7,90	6,28	1,26	1,12, 1,41 [*]	15,17	17,63
			E	10,89	8,32	1,31	1,15,1,49 [*]		
			F	15,34	9,77	1,57	1,40, 1,76 ^{**}		
			G	9,40	5,61	1,67	1,49, 1,89 ^{**}		
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	Día 13:día 1	D	0,68	0,55	1,24	1,03,1,50 [*]	26,29	27,22
			E	0,89	0,68	1,32	1,06,1,64 [*]		
			F	1,62	1,06	1,52	1,26,1,85 [*]		
			G	0,79	0,43	1,85	1,50, 2,27 ^{**}		

D =Cápsula de emulsión 0,84 g. (Dosis: EPA 363 mg; DHA 294 m g)

E = Cápsula de emulsión 1,68 g. (Dosis: EPA 726 mg; DHA 588 mg)

F = Cápsula de emulsión 3,36 g. (Dosis: EPA 1452 mg; DHA 1176 mg)

G = LOVAZA, 4 g. (Dosis: EPA 1832 mg; DHA 1416 mg)

* = la comparación fue estadísticamente significativa al nivel del 10%.

** = la comparación fue estadísticamente significativa a $p < 0,0001$.

1. Parámetros farmacocinéticos de 0-24 h

2. Analizado usando ANCOVA, ajustando efectos fijos para el tratamiento, día, tratamiento por día, e incluyendo valor de nivel inicial como covariable.

Los valores de $AUC_{(0-24)}$ de EPA y DHA libres y totales aumentaron significativamente en el día 13 en comparación con el día 1 tanto para las cápsulas de emulsión como para LOVAZA (4 g). En comparación con el día 1, los valores de $AUC_{(0-24)}$ de EPA y DHA libres y totales en el día 13 aumentaron de 1,26 a 1,95 veces para las cápsulas de emulsión y de 1,67 a 2,43 para LOVAZA, 4 g. Los IC del 90% asociados con valores de $AUC_{(0-24)}$ de EPA y DHA libres y totales estuvieron generalmente fuera del intervalo de 0,8 a 1,25 para la comparación del día 13:día 1. Los resultados indican una acumulación significativa de EPA y DHA libres y totales tras la dosificación repetida de las cápsulas de emulsión (de 0,84 a 3,36 g de K85EE) y LOVAZA, 4 g durante 13 días.

Se evaluó la proporcionalidad con la dosis de EPA y DHA (totales y libres) tras la dosificación repetida de las formulaciones de emulsión e incluyó los resultados mostrados en la tabla 9.

Tabla 9: Resultados de análisis para la evaluación de la proporcionalidad con la dosis para EPA/DHA libres y totales tras la dosificación repetida formulaciones de emulsión en la parte B

Analito	Parámetro ¹	Pendiente ²	IC del 90%	CVb (%)
EPA total	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	0,85	0,64, 1,06	39,10
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	0,93	0,70, 1,16	43,10
DHA total	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	0,75	0,50, 0,99*	47,17
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	0,76	0,50, 1,02	49,96
EPA libre	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	1,28	0,99, 1,58	53,37
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	1,29	1,08, 1,50*	38,63
DHA libre	$AUC_{(0-24\text{ h})}$ (ug·h/ml)	0,98	0,81, 1,15	31,66
	$C_{\text{máx}}$ (ug/ml)	0,80	0,64, 0,96*	29,67

* = Significativo al nivel del 10%.

1. Parámetros farmacocinéticos de 0-24 h.

2. Analizado usando un modelo potencial.

No hubo ninguna desviación principal de la proporcionalidad con la dosis para EPA total y DHA libre. La exposición de EPA libre tras la dosificación repetida fue mayor que la proporcional a la dosis, y la exposición de DHA total tras la dosificación repetida fue menor que la proporcional a la dosis.

El porcentaje de incorporación de EPA en fosfolípidos en plasma a lo largo de un periodo medido de 24 horas se presenta en la tabla 10 para AUC a lo largo de 24 horas. Se observaron patrones similares para $C_{\text{máx}}$.

Tabla 10: Incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos - parámetros

	Régimen	N	Media geométrica de AUC (0-24 h*) (IC del 95%)		
			Día -1	Día 1	Día 13
% de EPA	D	11	6,97 (5,75, 8,46)	15,61 (12,0, 20,3)	27,7 (24,3, 31,6)
	E	8	8,54 (6,12, 11,9)	18,4 (14,7, 23,0)	44,3 (37,2, 52,9)
	F	10	7,30 (5,86, 9,09)	28,3 (24,0, 33,4)	67,2 (57,9, 77,9)
	G	9	8,60 (6,86, 10,8)	11,5 (9,06, 14,6)	34,5 (24,7, 48,3)
	P	9	7,56 (5,48, 10,4)	10,2 (8,52, 12,2)	10,9 (8,79, 13,4)
% de DHA	D	11	50,0 (44,6, 56,1)	54,3 (47,8, 61,8)	74,5 (67,8, 81,9)
	E	8	51,8 (40,6, 65,9)	55,1 (42,0, 72,2)	98,9 (82,2, 119)
	F	10	48,8 (40,2, 59,3)	59,3 (50,1, 70,2)	110 (99,4, 123)
	G	9	49,5 (42,4, 57,7)	51,9 (45,5, 59,1)	89,3 (77,3, 103)
	P	9	51,3 (46,4, 56,7)	54,0 (48,2, 60,5)	53,0 (50,1, 56,0)

D: Cápsula de emulsión, 0,84 g

E: Cápsula de emulsión, 1,68 g

F: Cápsula de emulsión, 3,36 g

G: LOVAZA, 4 g

P: Placebo (combinado)

La tabla 11 refleja el cambio en porcentaje desde el nivel inicial en la exposición promedio (C_{media} calculada a partir del AUC[0-24 h] dividido entre 24), día 13:

5 Tabla 11:

	C_{media} , %	C_{media} , %
Tratamiento	EPA	DHA
D	278	46
E	415	89
F	810	118
G	282	78
P	37	11

Se evaluó la proporcionalidad con la dosis de C_{media} con estimaciones puntuales (IC de %) de 0,77 (0,55, 0,99) para EPA y 0,67 (0,41, 0,94) para DHA. El análisis paramétrico de las ramas de tratamiento con emulsión en comparación con LOVAZA como referencia indicó que la incorporación de EPA y DHA (C_{media}) fue significativamente mayor para el tratamiento F y la incorporación de DHA para el tratamiento D fue significativamente menor.

- 10 Se evaluó la incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos en plasma antes de la dosis en los días -1, 1, 6 y 13. Tal como se muestra en la tabla 12, EPA y DHA aumentaron en todos los grupos de tratamiento activo a lo largo del periodo de dosificación, EPA en mayor medida:

Tabla 12:

	DHA – aumento en % en el día 13 (antes de la dosis)	EPA – aumento en % en el día 13 (antes de la dosis)
D	33	234
E	88	427
F	92	790
G	62	366

- 15 La incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos en plasma mostró aumentos relacionados con la dosis, así como aumentos en el día 13 para los grupos de tratamiento activo. El perfil de incorporación para LOVAZA, 4 g se encontraba entre el observado para las dosis de emulsión de 1 y 2 cápsulas. El aumento desde el nivel inicial en el día 13 para el AUC de 24 horas fue el mayor con la dosis de emulsión de 4 cápsulas (~8 veces para EPA y ~2 veces para DHA); y fue aproximadamente del doble del observado para LOVAZA, 4 g para EPA. La incorporación medida antes de la dosis en los días -1, 1, 6 y 13 mostró un aumento relacionado con la dosis similar. Tras la dosificación repetida, la incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos aumentó con respecto al nivel inicial en todos los grupos de tratamiento activo; el aumento fue dependiente de la dosis para EPA observándose un aumento de 8 veces para la dosis de 4 cápsulas de emulsión en comparación con un aumento de 4 veces para LOVAZA, 4 g. La incorporación de DHA también aumentó, aunque en menor medida.

- 25 Además, se encontró que el alimento afectaba a la exposición de EPA tras la dosificación con LOVAZA, 4 g, pero no con las cápsulas de preconcentrado de emulsión. Se observaron aumentos significativos en los valores de $AUC_{(0-8)}$ para EPA libre y total cuando se administraron dosis de LOVAZA, 4 g con una comida con alto contenido en grasa en comparación con el estado en ayunas (tabla 13). No se observó ningún efecto del alimento para los valores de $AUC_{(0-8)}$ de EPA libre y total cuando se administraron dosis de las cápsulas de preconcentrado de emulsión con una comida con alto contenido en grasa en comparación con el estado en ayunas. Sin pretender vincularse o limitarse a la teoría, se cree que la formulación de LOVAZA, 4 g, se benefició de la acción emulsionante de sales biliares durante la digestión de alimentos. En cambio, el preconcentrado de emulsión, ya suministrado como forma de dosificación emulsionable, no pareció beneficiarse de, o requerir, una emulsificación adicional mediante sales biliares para su absorción.

Tabla 13:

Tratamiento	Razón de $AUC_{(0-8)}$ de EPA total con alimento/en ayunas	IC del 90% inferior	IC del 90% superior
LOVAZA	2,11	1,64	2,71
LEM-1	1,2	0,95	1,53
LEM-2	1,2	0,92	1,57
LEM-4	1,02	0,81	1,3

El estudio clínico anterior muestra que la composición de preconcentrado de emulsión proporcionó aumentos sustanciales en la exposición de EPA y DHA así como la incorporación de EPA y DHA en fosfolípidos, en comparación con el producto LOVAZA no emulsionado. Esta biodisponibilidad aumentada puede proporcionar una eficacia aumentada, por ejemplo reducción de triglicéridos aumentada, en comparación con el producto LOVAZA no emulsionado en sujetos que necesitan tratamiento. Por tanto, una cápsula de preconcentrado de emulsión de la invención puede permitir dosis menores y/o menos unidades de dosificación para una eficacia igual o similar que el aceite de ácidos grasos omega-3 no emulsionado correspondiente. Por consiguiente, puede necesitarse menos aceite de ácidos grasos omega-3 para lograr la eficacia, lo que a su vez reduce posiblemente los impactos medioambientales, la exposición a componentes no deseados del aceite, efectos secundarios, ingesta calórica y costes de terapia.

REIVINDICACIONES

1. Forma de dosificación oral que es un producto de suplemento alimenticio, nutricional o farmacéutico que comprende una composición de preconcentrado de emulsión que comprende:
desde el 60 hasta el 85% en peso de un aceite de ácidos grasos omega-3; y
5 desde el 15 hasta el 40% en peso de uno o más tensioactivos;
basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición;
en la que la composición está caracterizada porque el tensioactivo se selecciona de PEG 35-aceite de ricino, polisorbato 80 y mezclas de los mismos.
2. Forma de dosificación oral según la reivindicación 1, en la que, en contacto con un líquido acuoso, la composición de preconcentrado puede formar una emulsión que tiene una mediana del tamaño de partícula de desde 100 nm hasta 3 μ m.
3. Forma de dosificación oral según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el aceite de ácidos grasos omega-3 comprende al menos el 40% (por ejemplo al menos el 80%) en peso de uno o más ácidos grasos omega-3.
4. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el aceite de ácidos grasos omega-3 es el único componente activo en la composición.
5. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el tensioactivo es una mezcla de PEG 35-aceite de ricino y polisorbato 80.
6. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición de preconcentrado de emulsión comprende desde el 60 hasta el 80% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3 y desde el 20 hasta el 40% en peso del tensioactivo, basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición.
7. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición de preconcentrado de emulsión comprende el 70% en peso del aceite de ácidos grasos omega-3 y el 30% en peso del tensioactivo, basándose en el peso total del aceite de ácidos grasos omega-3 y el tensioactivo en la composición.
8. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la composición de preconcentrado de emulsión comprende además del 0,1 al 5% en peso, basándose en el peso total de la composición, de un codisolvente seleccionado de agua, alcoholes C₁₋₄ y mezclas de los mismos.
9. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la razón en peso del aceite de ácidos grasos omega-3 con respecto al tensioactivo es superior a 2:1.
10. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en forma de una cápsula dura o blanda.
11. Forma de dosificación oral según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o un estado seleccionado del grupo que consiste en hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, dislipidemia mixta, enfermedad cardiovascular, cardiopatía coronaria (CHD), enfermedad vascular, enfermedad aterosclerótica y estados relacionados, acontecimientos cardiovasculares y/o vasculares.